DER EINFLUSS VON ALLOPURINOL AUF DIE ENDOGENE UND EXOGENE URATQUOTE

Karl Sauer

1972

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

DER EINFLUSS VON ALLOPURINOL AUF DIE ENDOGENE UND EXOGENE URATQUOTE

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

KARL SAUER

aus Landshut

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner
2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.11.1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einleitung und Problemstellung	1
B.	Einführung in den Purinstoffwechsel	2
	I. Die Purinsynthese und ihre Regulation	2
	II. Bildung und Ausscheidung der Harnsäure	9
C.	Familiäre Hyperurikämie	13
	I. Gicht	13
	II. Therapie der familiären Hyperurikämie	16
	1. Diät	
	2. Uricosurica	
	3. Medikamente zur Hemmung der Harnsäurebildung: DON, Orotsäure, Azathioprin, Allopurinol	
D.	Methodik	19
	I. Quantitative Bestimmung der Harnsäure in Serum u. Urin	19
	II. Quantitative Bestimmung von Hypoxanthin und Xanthin im Urin	24
	III. Versuchsbeschreibung	31
	1. Versuchspersonen	
	2. Diät	
	3. Meßgrößen	
	4. Versuchsablauf und -dauer	
E.	Untersuchungsergebnisse	35
F.	Diskussion	39
	Endogene Uratquote	39
	Exogene Uratquote	40
	Allopurinolwirkungen	41

Seite

G. Zusammenfassung 50

H. Tabellen und Abbildungen 51

I. Literaturnachweis 72

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Eine eiweißarme und purinfreie Nahrung führt im menschlichen Organismus zu einer minimalen, annähernd konstanten Harnsäurebildung und -ausscheidung, die als endogene Uratquote bezeichnet wird (1). Bei Verwendung von purinfreiem Eiweiß spielt die Höhe der Proteinzufuhr nur eine geringe Rolle.

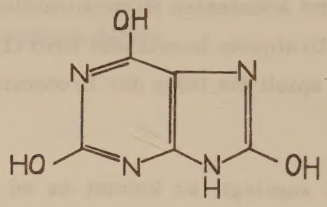
Werden der Kost Eiweiß und Purine zugelegt, so kommt es zu einer zusätzlichen Harnsäureausscheidung, die man exogene Uratquote nennt (1).

Allopurinol hemmt durch die Blockierung des Enzyms Xanthinoxydase die Bildung von Harnsäure und führt so zu einer Verringerung der renalen Harnsäureausscheidung. Gleichzeitig ist ein Anstieg der Ausscheidung der Harnsäurevorläufer Hypoxanthin und Xanthin zu beobachten.

Aufgabe dieser Untersuchung war es, zu ermitteln, ob von dieser Verminderung der renalen Harnsäureausscheidung durch Allopurinol beide Uratquoten in gleichem Maße betroffen werden.

B. EINFÜHRUNG IN DEN PURINSTOFFWECHSEL

Die Strukturformel der Harnsäure zeigt, daß es sich bei dieser Verbindung um das 2, 6, 8-Trioxypurin handelt. Harnsäure ist das Endprodukt des Purinstoffwexhels im menschlichen Organismus.



I. Die Purinsynthese und ihre Regulation

Der menschliche Körper ist in der Lage, Purine selbst zu synthetisieren (1, 2a, b, c). Die Neusynthese, als de-novo-Synthese bezeichnet, führt nicht zum freien Purin, sondern zuerst zu einem Purinnukleotid.
Die erste Reaktion der Synthese ist die Aminierung von 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat mit Glutamin zu 5-Phosphoribosyl-1-amin; sie wird von dem Enzym Glutamin-Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase katalysiert. Im weiteren Verlauf werden alle Komponenten um ein Glycinmolekül gruppiert. Erst wird der Imidazolring geschlossen, dann der Sechsring des Purinringsystems angelegt.
Als erstes Purinderivat entsteht so Inosinmomophosphat (IMP).

IMP ist Ausgangssubstanz für die Bildung von weiteren Purinverbindungen. Wichtig sind drei Reaktionswege:

- die spezifische Enzymreaktion über Adenylosuccinat zum Adeninmonophosphat (AMP);
- eine zweite, mit Xanthinosin-5-monophosphat als Zwischenprodukt, zum Guanosinmonophosphat (GMP).

Beide Reaktionsprodukte stehen mit den ihnen entsprechenden Polyphosphaten im Gleichgewicht. So führen diese Reaktionen direkt zur Synthese der Nukleinsäuren und der purinhaltigen Coenzyme.

- Der dritte Weg, ausgehend von Inosinsäure, dient dem Abbau der Purine. Er endet nach mehreren enzymatischen Reaktionen bei der Harnsäure (siehe II.)

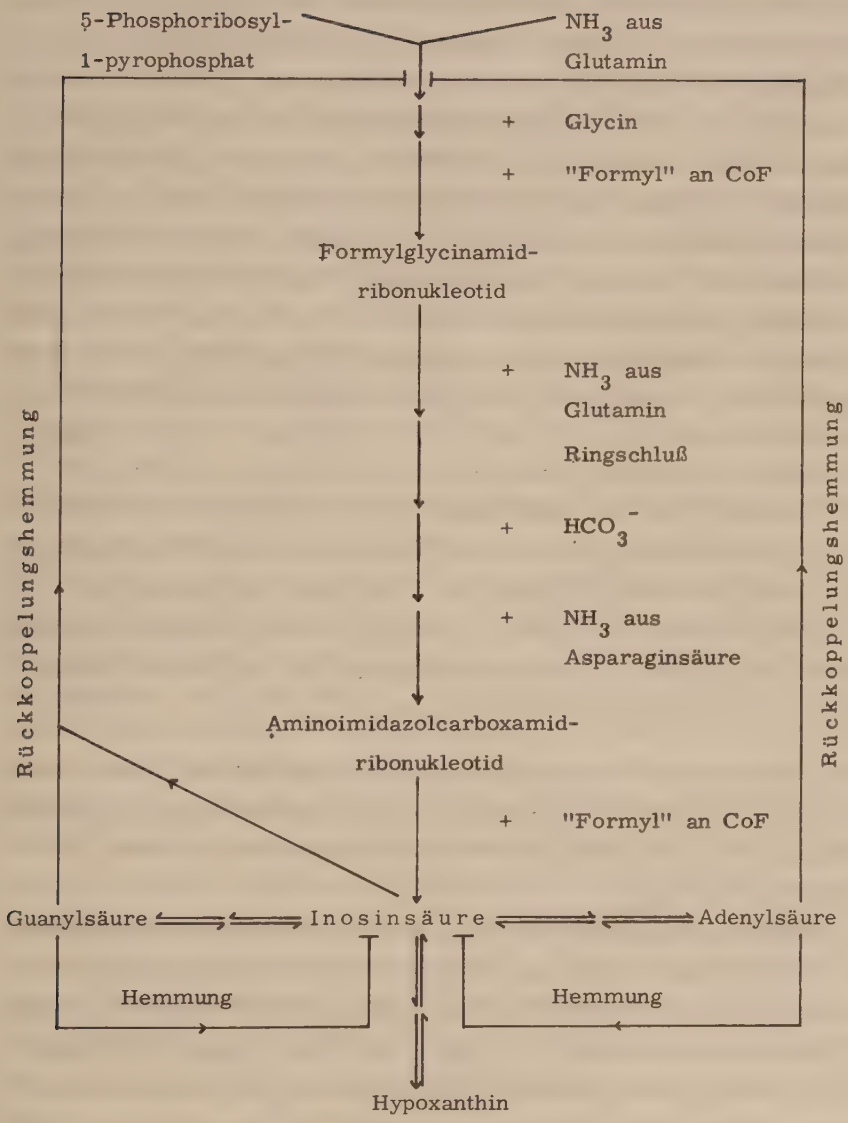


Abb. 1: Reaktionen der Purinsynthese
(Modifiziert nach ZÖLLNER, 25 und HENDERSON, 32)

Adenyl- und Guanylsäure hemmen über einen Feedback-Mechanismus ihre Bildung aus IMP (3, 4). Dieser Vorgang allein reicht aber nicht aus, die gesamte de-novo-Synthese der Purine zu steuern.
Hierin kommt vor allem der ersten Reaktion der Synthese, der Bildung von 5-Phosphoribosyl-1-amin, große Bedeutung zu. Das Enzym Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase (PRPP-Amidotransferase) regelt die Geschwindigkeit dieser irreversiblen Reaktion und damit die Gesamtsyntheserate. WYNGAARDEN (5) zeigte, daß die Aktivität der PRPP-Amidotransferase durch Adenyl-, Guanylsäure und auch andere natürlich vorkommende Purinnukleotide beeinträchtigt werden kann. Die Blockierung dieses Enzyms durch Endprodukte der Synthese stellt somit für deren Ablauf einen wirksamen Kontrollmechanismus dar. Nach anderen Untersuchungen, die diese Ergebnisse bestätigen, ist diese Hemmung durch die Endprodukte in Bezug auf PRPP kompetitiv. AMP und GMP konkurrieren am Enzym nicht untereinander. Die Bindungsstellen für 6-Amino-Purinnukleotide und 6-Hydroxy-Purinnukleotide am Enzym sind getrennt. Bei gleichzeitiger Einwirkung dieser beiden Substanzen kommt es zu einer maximalen Hemmung. Ebenso finden sich Hinweise, daß der Ort für die Hemmwirkung und der für die katalytische Leistung am Enzym getrennt lokalisiert sind (6, 7).

Für die Regulation der Purinbiosynthese nimmt man daher an, daß die Neusynthese nach Produktion ausreichender Mengen von AMP und GMP für den Nukleinsäure- und den Coenzymaufbau durch diese Nukleotide selbst gebremst wird (Abb. 1).
Störungen dieser Regulation, die zu einer gesteigerten Syntheserate führen, lassen sich einerseits durch eine vermehrte Enzymaktivität infolge verminderter Produktkonzentrationen von IMP, AMP und GMP, andererseits durch ein erhöhtes Substratangebot von Glutamin oder PRPP erklären. Hinweise gibt es sowohl für einen vermehrten Umsatz an PRPP bei bestimmten gichtkranken Personen durch JONES und Mitarbeiter (8), als auch für eine Hypothese, wonach durch eine Störung speziell im Glutaminstoffwechsel ein übermäßig hoher Gehalt an intrazellulärem Glutamin bei Gichtpatienten eine gesteigerte Purinsynthese verursacht (9).

Eine überhöhte Syntheserate der Purin-de-novo-Synthese ist Ursache für die exzessive Harnsäureausscheidung bei Kindern mit LESCH-NYHAN-Syndrom (10). Klinisch zeigen sich Gicht mit Gichtarthritis, Tophi und Gichtniere, sowie zentralnervöse und neurologische Störungen. Man findet bei diesen Kindern eine meist in den ersten beiden Lebensjahren auftretende Choreoathetose, geistige Unterentwicklung und Verhaltensstörungen, die bis zu aggressiver Selbstverstümmelung führen. Alle bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse weisen auf eine rezessive, an das X-Chromosom gebundene Vererbung hin (11, 12). SEEGMILLER, ROSENBLOOM und KELLEY (13) fanden als auffallende biochemische Variante bei solchen Patienten ein Fehlen des Enzyms Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (HG-PRTase).

Die HG-PRTase katalysiert Reaktionen, in denen aus den freien Purinbasen die entsprechenden Nukleotide entstehen (Tab. 1, I). Guanin wird mit Phosphoribosylpyrophosphat zu Guanylsäure und anorganischem Pyrophosphat umgesetzt; ebenso reagiert das Enzym mit den Substraten Hypoxanthin und Xanthin, als Endprodukte entstehen hier Inosinsäure bzw. Xanthosin-5-phosphat. Die Reaktionen sind irreversibel.
Durch ihre Endprodukte IMP und GMP stehen die Reaktionen der HG-PRTase mit der entscheidenden ersten Reaktion der de-novo-Purinsynthese in enger Beziehung. Bei beiden Reaktionen wird das gleiche Substrat PRPP verbraucht. Das Endprodukt der de-novo-Synthese, IMP, ist für die PRTase nicht nur Produkt, sondern auch Hemmstoff (14). Schließlich hemmen die Purinmonophosphate sowohl das Enzym HG-PRTase als auch die PRPP-Amidotransferase (15). Somit ist auch die Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase an der Regulation der de-novo-Synthese der Purine beteiligt, wahrscheinlich über den Einfluß auf die Konzentration der Purinribonukleotide und/oder von intrazellulärem PRPP. Der genaue Mechanismus ist noch unklar.
Ein verminderter Gewebsspiegel des Enzyms HG-PRTase, wie er bei einigen Gichtkranken gefunden wurde (16) oder der völlige Enzymmangel wie z.B. beim LESCH-NYHAN-Syndrom (13) könnten zu geringe Gewebskonzentrationen

Tab. 1: Reaktionen von Phosphoribosyltransferasen
(nach KELLEY, 17)

I. Hypoxanthin-Guanin-PRTase

a. Hypoxanthin + PRPP ⟶ IMP + PP
b. Guanin + PRPP ⟶ GMP + PP
c. Xanthin + PRPP ⟶ XMP + PP
(Xanthosin-5-monophosphat)

Zusätzliche Substrate:

6-Mercaptopurin
4-Hydroxypyrazolo(3, 4-d)-pyrimidin (Allopurinol)
6-Thioguanin
8-Azaguanin
8-Azaxanthin

II. Adenin-PRTase

a. Adenin + PRPP ⟶ AMP + PP
b. 5-Aminoimidazol-4-carboxamid + PRPP ⟶ 5-Aminoimidazol-4-carboxamid-ribonukleotid + PP

Zusätzliche Substrate:

2, 6-Diaminopurin
4-Aminopyrazolo(3, 4-d)pyrimidin
2-Fluoroadenin

von AMP, GMP und IMP verursachen und so eine Erhöhung der Purinproduktionsrate zur Folge haben. Andererseits ist auch denkbar, daß ein verminderter Verbrauch an PRPP durch eine erniedrigte oder fehlende HG-PRTase-Aktivität zu einem erhöhten Angebot des Substrats in der ersten Reaktion der Biosynthese führt und es auf diese Weise zur Mehrproduktion von Purinnukleotiden kommt. Interessant ist jedenfalls der Zusammenhang einer exzessiven Bildung eines Produkts (hier letztlich dann Harnsäure) eher mit einem Enzymdefekt als mit einer primären Aktivitäts- oder Konzentrationssteigerung eines Enzyms.

Ein analog wirkendes Enzym mit anderer Substratspezifität ist Adenin-Phosphoribosyl-Transferase (A-PRTase). Sie ist Katalysator der Bildung von AMP direkt aus Adenin und PRPP (17; Tab. 1, II). Auch dieses Enzym unterliegt der Hemmung durch das Endprodukt seiner Reaktion (18).

Zusammenfassend kann zur Regulation der Purinbiosynthese (Abb. 2) gesagt werden, daß diese über die entscheidenden Reaktionen der Enzyme Glutamin-PRPP-Amidotransferase (erste Synthesereaktion) und der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase mittels der Substrate und/oder der Produkte gesteuert wird, während die Adenin-PRTase-Reaktion nur geringe Auswirkungen auf die Rate der de-novo-Synthese zeigt (17).
Adenyl- und Guanylsäure können sowohl direkt aus ihren entsprechenden freien Purinbasen als auch durch völlige Neusynthese über IMP gebildet werden. Beide Nukleotide hemmen ihre Bildung aus IMP, dem Produkt der de-novo-Synthese. Sie blockieren ihre entsprechenden Phosphoribosyltransferasen und regeln so die Bildung der Purinnukleotide aus den freien Basen. Schließlich hemmen beide das für die Produktionsrate der Purinbiosynthese verantwortliche Enzym Glutamin-PRPP-Amidotransferase in der ersten Synthesereaktion.
Weiter spielt das verfügbare Angebot an PRPP in den Zellen eine wichtige Rolle; es stellt für die de-novo-Synthese einen limitierenden Faktor dar.

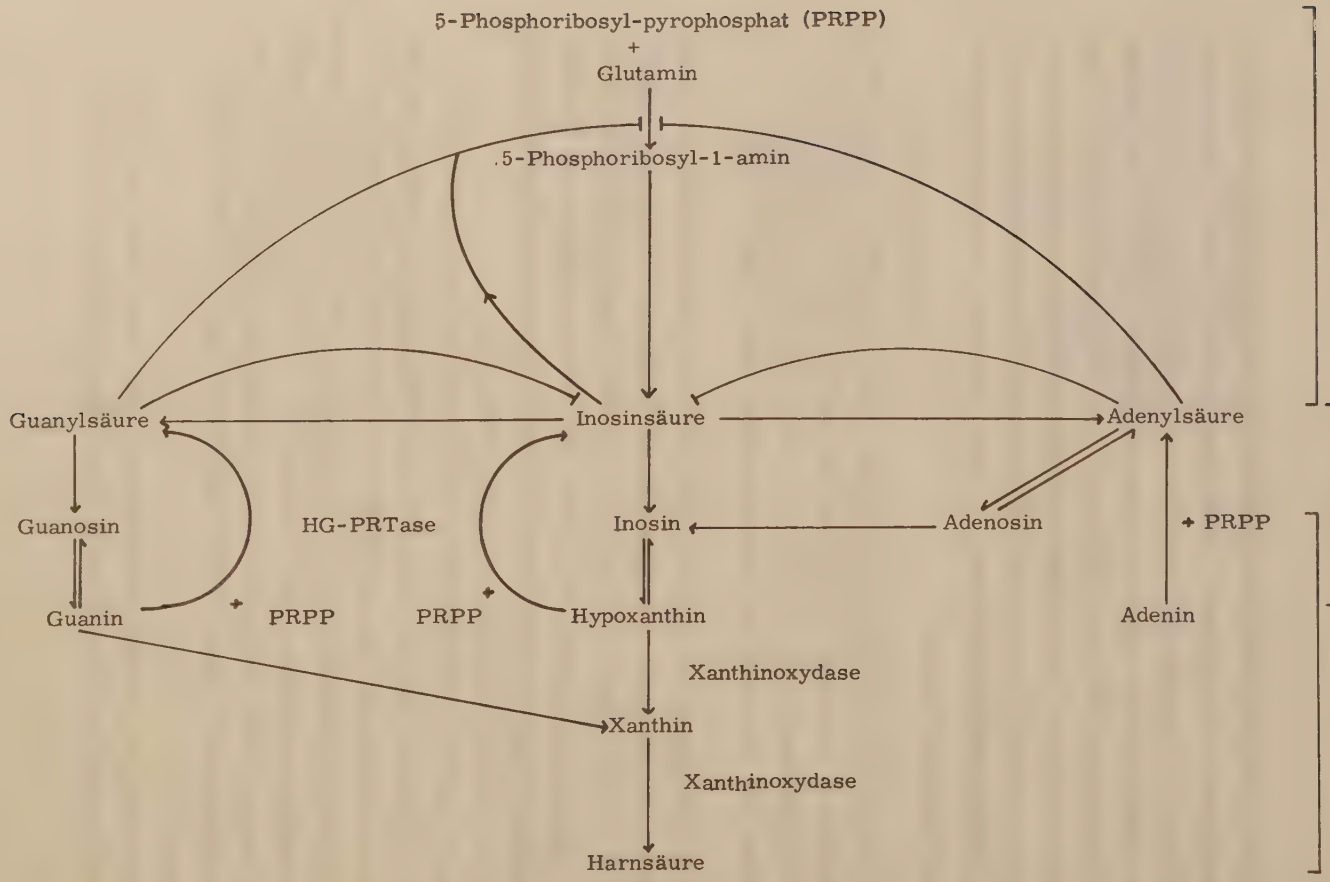


Abb. 2: De-novo-Synthese, Intermediärstoffwechsel und Abbau der Purine und ihre Regulation (nach KLELLEY, 72)

II. Bildung und Ausscheidung der Harnsäure

Die aus dem in der Biosynthese produzierten IMP entstehenden Purinnukleotide werden in den Nukleinsäurestoffwechsel eingeschleust und verfallen dann letztlich der Degradation zu Harnsäure. Der direkte, kürzere Weg des Purinabbaus von Inosinmonophosphat zur Harnsäure stellt dabei wahrscheinlich eine Regulationsmöglichkeit des Organismus für die prompte Entfernung von Purinen dar, die über den notwendigen Bedarf hinaus angeliefert werden (20, 53).

Prinzipiell kommt es beim Abbau der Purinnukleotide nacheinander zur Abspaltung des Phosphats und dann der Ribose.

Adenosin jedoch wird zuerst desaminiert, dann erfolgt die phosphorolytische Abspaltung des Zuckers. Wie Abb. 2 zeigt, münden alle Abbauwege bei den Oxypurinen Hypoxanthin und Xanthin, wobei Hypoxanthin, soweit es nicht wieder in den Intermediärstoffwechsel eingeht, mittels Xanthinoxydase in Xanthin übergeführt wird. Dessen Reutilisationsquote ist vergleichsweise gering; es wird weiter zu Harnsäure oxydiert. Wieder ist Xanthinoxydase der Katalysator. Letzlich ist also dieses Enzym für die Harnsäurebildung beim Menschen verantwortlich. Das Fehlen nur dieses einen Enzyms führt, wie dies bei Personen mit kongenitalem Xanthinoxydasemangel zu beobachten ist, zur Unterbrechung der Harnsäurebildung und Ausscheidung der Oxypurine*) Hypoxanthin und Xanthin als Endprodukte des Purinstoffwechsels (19).

Harnsäure wird im Körper nicht weiter verändert. Für einen Abbau fehlt dem Organismus das Enzym Urikase, das im Verlauf der Entwicklungsgeschichte der Säugetiere durch eine Mutation verloren ging; es ermöglicht den enzymatischen Abbau der Harnsäure zum besser löslichen Allantoin.

---

*) Im Rahmen dieser Arbeit werden im Folgenden als "Oxypurine" nur Hypoxanthin und Xanthin zur deutlichen Unterscheidung von Harnsäure bezeichnet, obwohl streng genommen auch diese eine Oxypurinverbindung ist.

Quantitativ stammt Harnsäure in noch ungeklärten Proportionen aus den verschiedenen Vorläufern (Abb. 3). Die Synthesegröße der de-novo-Synthese und die Umsatzrate des Nukleinsäurenstoffwechsels bestimmen den endogenen Anteil der gesamten Harnsäurebildung; der Stoffwechsel der Coenzyme spielt nur eine minimale Rolle. Wesentlich dagegen ist der Anteil, der durch exogene Purine verursacht wird. Zwar ist Harnsäure selbst kein Nahrungsbestandteil, jedoch haben mit der Nahrung aufgenommene Purinbasen, -nukleoside, -nukleotide und Nukleinsäuren großen Einfluß auf die Größe der Harnsäurebildung.

Die Summe aller Reaktionen, welche Purinverbindungen auf- und abbauen, wird Purinzyklus genannt. Trotz der Reversibilität der meisten Reaktionen erfolgt die Massenbewegung von den Ausgangssubstanzen in Richtung auf die Harnsäure, da Zufuhr, Synthese und Ausscheidung dauernd vor sich gehen und ein Gefälle erzeugen (Abb. 3).

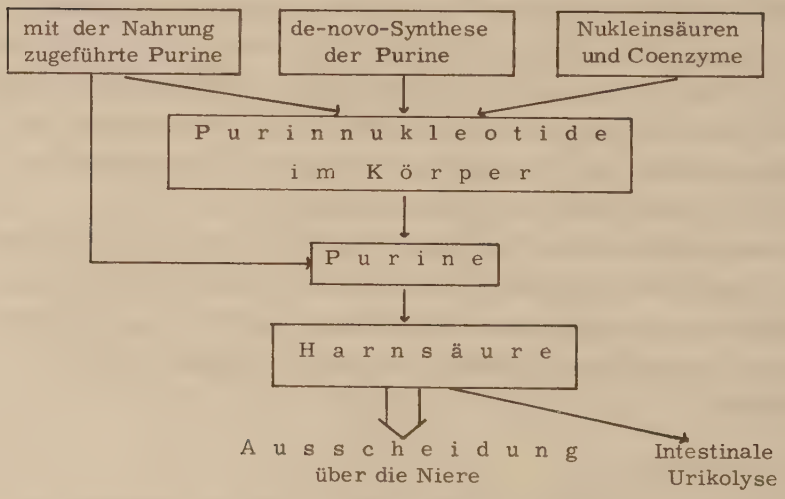


Abb. 3: Herkunft und Ausscheidung der Harnsäure beim Gesunden (nach SEEGMILLER und Mitarbeiter, 20)

Die Menge an Harnsäure im Körper ist das Ergebnis eines dynamischen Gleichgewichts zwischen ihrer Bildung und der Ausscheidung. Die Harnsäurekonzentration im Blut ist ein klinisch-diagnostisch brauchbarer Parameter hierfür. In großangelegten Untersuchungen mit auslesefreiem Material wie in Framingham durch HALL und Mitarbeiter (21) oder durch MIKKELSEN und Mitarbeiter (22) in Tecumseh (Michigan) wurden Normalwerte für die Serumharnsäure ermittelt, die gut miteinander übereinstimmen. In der Tecumseh-Studie liegen die mittleren Serumharnsäurespiegel bei Männern mit 4,9 mg% $\pm$ 1,4 (s) deutlich über dem Durchschnittswert bei Frauen von 4,2 mg% $\pm$ 1,16 (s).

Als Endprodukt, das nicht weiter abgebaut werden kann, wird Harnsäure vom Körper ausgeschieden. Der quantitativ wichtigste Weg ist der über die Niere. Neben ihm gibt es noch die Ausscheidung durch den Magen-Darm-Trakt.
Nach neueren Ergebnissen werden ca. 100 mg Harnsäure pro Tag durch Speichel, Magensaft und Galle ausgeschieden. Stuhl ist praktisch harnsäurefrei; die Harnsäure unterliegt im Darm dem Abbau durch die Darmbakterien. Nach Ergebnissen von Versuchen, in denen Harnsäure in den Faeces während Bakteriostase des Darms bestimmt wurde, darf man annehmen, daß etwa 20% der gesamten Harnsäureausscheidung auf die intestinale bakterielle Urikolyse entfallen (24, 25; Abb. 3).
HOWELL und SEEGMILLER (26) fanden in menschlichen Leukozyten einen Harnsäureabbau durch Peroxydase zu Allantoin, doch ist dieser Anteil an der Elimination von Harnsäure von geringerer Bedeutung als die bakterielle Urikolyse im Intestinaltrakt.

Die renale Harnsäureausscheidung beträgt bei einer purin- und eiweißarmen Kost 400 - 500 mg täglich (25). Der Mechanismus der Ausscheidung ist heute weitgehend geklärt. Zunächst gelangt die Harnsäure durch glomeruläre Ultrafiltration in den Primärharn. Im tubulären System wird sie proximal fast vollständig rückresorbiert. Die meßbare Ausscheidung im Endharn ist durch eine tubuläre Sekretion zu erklären. Diese Sekretion von Harnsäure wurde bei Ex-

perimenten am Tier (27) und bei Untersuchungen am Menschen gefunden (28). Sie findet wahrscheinlich im proximalen und distalen Teil des tubulären Systems statt und wird als aktive Leistung angesehen.
Das Zusammenwirken von Filtration, Rückresorption und Sekretion führt bei einer normalen Plasmakonzentration der Harnsäure zu einer Clearance dieser Substanz von rund 9 mg/min (25). Diese niedere Clearance hat ihre Bedeutung möglicherweise in der Verringerung der Gefahr einer Ausfällung von Harnsäurekristallen im Ausscheidungssystem, spielt doch die Löslichkeit eine wichtige Rolle.

Der Körper ist in der Lage, die Harnsäureausscheidung zu regulieren. Entscheidend wurde die Entdeckung von NUGENT und TYLOR (29) bei Purinbelastungsversuchen, daß bei gleichem erhöhtem Plasmaharnsäurespiegel der Gesunde mehr Harnsäure ausscheidet als der Gichtkranke, was auch andere Untersuchungen bestätigen (30). ZÖLLNER (31) zeigte, daß beim Gesunden mit steigendem Plasmaharnsäurespiegel die Harnsäuresekretion der Speicheldrüsen zunimmt. Unter der Voraussetzung, daß sich alle epithelialen Gewebe bezüglich des Harnsäuretransports einheitlich verhalten, bedeutet dies, daß eine Erhöhung der Harnsäureausscheidung durch eine erhöhte tubuläre Sekretion zustande kommt. Über die metabolischen Vorgänge beim tubulären Transport der Harnsäure ist noch wenig bekannt. Physiologische Vorgänge, z.B. körperliche Belastung oder Alkoholgenuß, die zu einem Anstieg der Laktat- und ß-Hydroxybuttersäurespiegel führen, hemmen die Harnsäureausscheidung. Die Blockierung der Transportmechanismen für Harnsäure mit Medikamenten nützt man zur Behandlung der Hyperurikämie aus.

Primär ist Harnsäure das Hauptausscheidungsprodukt des Purinstoffwechsels im menschlichen Körper. Doch werden im Urin auch andere Purine, die in kleinen Mengen Endprodukte darstellen, gefunden. Zusammen erreichen sie etwa einen Betrag von 30 mg/Tag. Den größten Anteil davon stellen die Oxypurine Hypoxanthin und Xanthin, doch sind auch die Nukleoside Adenosin, Inosin und Guanosin sowie freie Purinbasen daran beteiligt (9).

C. FAMILIÄRE HYPERURIKÄMIE

I. Gicht

Eine der häufigsten Erkrankungen, die auf eine Störung im Purinstoffwechsel zurückzuführen ist, ist die Gicht. Sie ist die klinische Manifestation der familiären Hyperurikämie und wird sowohl durch endogene als auch exogene Faktoren ausgelöst. Eine Erhöhung der Harnsäurekonzentration in den Körperflüssigkeiten ist die Ursache für das Auftreten akuter Monarthritis, Tophusbildung und Gelenkveränderungen, wie auch für die Beeinträchtigung der Nierenfunktion und die Harnsäurenephrolithiasis. Über die Entstehung einer erhöhten Harnsäurekonzentration im Serum bestehen noch Meinungsverschiedenheiten.

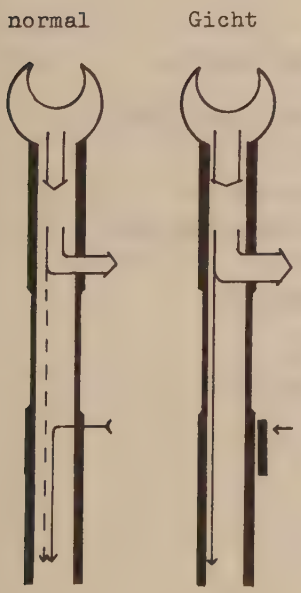


Abb. 4: Schema der renalen Harnsäureausscheidung bei der Gicht im Vergleich zu den normalen Verhältnissen (nach ZÖLLNER, 25).

Als Ursache der Hyperurikämie werden sowohl eine vermehrte Bildung der Harnsäure aus endogenen und exogenen Vorstufen (Überproduktionstheorie) als auch eine verminderte Ausscheidungsfähigkeit der Niere für Harnsäure (Ausscheidungstheorie) diskutiert. Für beide Erklärungen gibt es unterstützende Befunde. Innerhalb der Ausscheidungstheorie gilt es heute als wahrscheinlich, daß eine Erhöhung der sog. "Netto-Rückresorption" (= rechnerischer Differenzbetrag zwischen Filtrations- und Ausscheidungsmenge) beim Gichtkranken durch eine verringerte tubuläre Sekretion erklärt werden kann (25; Abb. 4). Die Veränderung im Stoffwechsel ist danach durch Änderungen in den zellulären Transportmechanismen für Harnsäure bedingt.

Tab. 2: Mögliche Ursachen einer Hyperurikämie
(nach HENDERSON, 32)

I. Erhöhte de-novo-Purinbiosynthese
(PRPP-Amidotransferase kontrolliert die Syntheserate)

1. Erhöhter Gehalt an Amidotransferase
   - Erhöhte Gendosis
   - Erhöhte Enzymsynthese
   - Verminderter Abbau oder Inaktivierung des Enzyms

2. Erhöhte Aktivität der Amidotransferase
   - Erhöhte Maximalgeschwindigkeit
   - Erniedrigte Michaeliskonstante

3. Vermehrt verfügbare Substrate
   - Erhöhte Syntheseraten
   - Verminderter Verbrauch durch andere Stoffwechselwege

4. Verringerte Rückkoppelungshemmung der Amidotransferase
   - Erniedrigte Konzentrationen der Hemmstoffe
   - Verringerte Affinität des Enzyms zu den Hemmstoffen
   - Verminderter Effekt der Enzym-Hemmstoff-Wechselwirkung

II. Verstärkter Nukleotid- oder Nukleinsäurenumsatz

1. Verstärkte Aktivität der abbauenden Enzyme
2. Verringerter Intermediärstoffwechsel der Nukleotide
3. Vermehrter Nukleinsäurenabbau

III. Verstärkter Zellumsatz

1. Hämolytische Erkrankungen
2. Psoriasis, Sarkoidose
3. Zytostatika

IV. Verminderte Harnsäureausscheidung

1. Erbliche Nierenschäden
2. Chronische Nierenerkrankungen
3. Blockierung der renalen Ausscheidung durch Stoffwechselprodukte
4. Blockierung der renalen Ausscheidung durch Arzneimittel

V. Vermehrter Genuß purinhaltiger Nahrungsmittel

Andere Autoren neigen dazu, zur Einordnung der verschiedenen Ergebnisse und Befunde mehrere verschiedene Ursachen anzunehmen, die aber alle zur Hyperurikämie führen. HENDERSON (32) erscheint angesichts der zahlreichen neuen Erkenntnisse die Unterscheidung zwischen primärer und sekundärer Gicht, wie sie z.B. bei Krankheiten des hämatopoetischen Systems auftreten kann, nicht mehr für zutreffend. Er bietet, unter Berücksichtigung einer Anzahl von biochemischen Grundveränderungen, eine neue Gliederung der möglichen Ursachen einer Hyperurikämie an (Tab. 2).

II. Therapie der familiären Hyperurikämie

Sie unterteilt sich in die Therapie des akuten Gichtanfalls und in die Langzeittherapie. Diese nimmt eine zentrale Stellung ein: sie soll vor einem Anfall schützen, ebenso aber auch das Eintreten bzw. eine weitere Ausprägung von Sekundärschäden der chronischen Hyperurikämie, wie sie Tophi, destruierende Gelenkveränderungen, Gichtniere und Harnsäurenephrolithiasis darstellen, verhindern. Beide Ziele erreicht man nur durch eine dauerhafte Senkung des erhöhten Harnsäurespiegels in den Körpersäften. Hierzu bieten sich drei Wege an:

- Einschränkung im Konsum stark purinhaltiger Nahrungsmittel (Verringerung der exogenen Purinzufuhr),
- Erhöhung der renalen Harnsäureausscheidung und
- Senkung der Harnsäuresyntheserate.

Diät

Am Einfluß der Nahrungszusammensetzung auf die Manifestation der Gicht besteht kein Zweifel. Die Senkung des Plasmaharnsäurespiegels aber, die man mit einer fett-, purinarmen und nur Milcheiweiß enthaltenden Diät erzielt, reicht meist nicht zur Normalisierung der Verhältnisse beim Gichtpatienten aus. In der Regel kann man heute in der Therapie der Gicht auf eine strenge Diätbehandlung verzichten, doch auch bei medikamentöser Behandlung sind Exzesse in der Purinzufuhr und im

Konsum alkoholischer Getränke zu vermeiden. Bedeutung hat die Einhaltung einer derartigen Diät dagegen bei der Harnsäurenephrolithiasistherapie und -prophylaxe.

Uricosurica

Uricosurica blockieren die Harnsäurerückresorption im proximalen Tubulusabschnitt der Niere; dies führt zur Zunahme der renalen Harnsäureausscheidung. Aus der großen Zahl der uricosurisch wirkenden Substanzen haben nur Probenecid und Sulfinpyrazon therapeutische Bedeutung. Es gelingt mit diesen Medikamenten über eine Hyperurikurie den Harnsäurespiegel zu senken und auch Uratdepots zu mobilisieren. Anfallshäufigkeit und Schwere der Anfälle nehmen ab.
Ähnlich wirken Salicylate in hohen Dosen bei unterschiedlicher Verträglichkeit. Niedere Dosen erzeugen den gegenteiligen Effekt (paradoxe Harnsäureretention), wahrscheinlich über eine selektive Blockierung der tubulären Sekretionsvorgänge. Salicylate hemmen die Wirkung einiger Uricosurica.
Neue Mittel mit uricosurischer Wirkung sind das Benziodaronum (33) und seine bromanaloge Verbindung Benzbromaronum (34) (2-Äthyl-3(4-hydroxy-3,5-dibrombenzoyl)-benzofuran). Letzteres gewinnt an Bedeutung durch seine hohe Wirksamkeit schon in geringer Dosierung und durch seine lang anhaltende Wirkungsdauer.

Medikamente zur Hemmung der Harnsäurebildung

Auf der Theorie einer Überproduktion von Harnsäure, was zumindest für einen Teil der Gichtkranken zutrifft, aufbauend, suchte man nach Arzneimitteln zur Blockierung der Harnsäuresynthese. Diese ist denkbar durch eine Hemmung der de-novo-Purinsynthese oder aber des Purinabbaus. Einen Einfluß auf die Purinbiosynthese fand man bei einigen zytostatischen und immunsuppressiven Substanzen. Besonders untersucht wurde 6-Diazo-5-oxo-1-norleucin (DON) (35). Als Glutaminanalogon greift es auf der Stufe des Formylglyzinamidribotids in die de-novo-Synthese hemmend ein, kommt

aber wegen seiner Nebenwirkungen nicht für eine Therapie bei primärer Gicht in Frage.
Die Wirkung von Orotsäure, einer Pyrimidinverbindung, beruht wahrscheinlich auf einer kompetitiven Hemmung der ersten Reaktion der Purinsynthese durch Bindung von Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) (36). Orotsäure wirkt daneben auch uricosurisch. Der Harnsäurespiegel im Serum wird unter Orotsäuretherapie gesenkt.
Azathioprin, ein Immunsuppressivum, ist eine strukturisomere Verbindung zu Hypoxanthin (Azathioprin = 1-Methyl-4-nitro-5-imidazol-thiopurin). Seine hemmende Wirkung auf die Purinsynthese durch Blockierung der PRPP-Amidotransferase ist bei Gichtpatienten mit HG-PRTase-Mangel aufgehoben (37). Azathioprin senkt den Plasmaharnsäurespiegel und verringert gleichzeitig die renale Harnsäureausscheidung. Bei gesunden Testpersonen zeigte es keinen Einfluß auf die Harnsäuresynthese (38).

Eine Senkung des Serumharnsäurespiegels fand man auch bei der Testung von Allopurinol, das ursprünglich in der zytostatischen Therapie zur Erhöhung der Wirksamkeit von 6-Mercaptopurin angewandt wurde (39). 6-Hydroxypyrazolo-(3,4-d)pyrimidin (= Allopurinol) ist strukturisomer zu Hypoxanthin und hemmt im Purinabbau die letzten Reaktionen des Hypoxanthin zu Xanthin und weiter zu Harnsäure (Abb. 11). Allopurinol wirkt als spezifischer Inhibitor des Enzyms Xanthinoxydase. Endprodukt des Purinstoffwechsels ist bei Allopurinolmedikation damit nicht mehr Harnsäure, sondern die Oxypurine Hypoxanthin und Xanthin. Folgen dieser Wirkungsweise sind, wie die Erprobung des Präparates zeigt, eine Senkung des Harnsäurespiegels im Plasma bei gleichzeitiger Verringerung der renalen Harnsäureausscheidung, während die Ausscheidung der Oxypurine stark zunimmt (39, 40, 41).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war, zu prüfen, ob von dieser Abnahme der renalen Harnsäureausscheidung die endogene wie auch die exogene Uratquote gleichermaßen betroffen wird.

D. METHODIK

Bei den Untersuchungen wurden der Serumharnsäurespiegel aus dem Nüchternblut, die Harnsäure- und die Oxypurinausscheidung im 24-Stunden-Urin quantitativ bestimmt.

I. Quantitative Bestimmung der Harnsäure in Serum und Urin

Die Bestimmung der Harnsäure in Serum und Urin erfolgte enzymatisch. Dabei wurde die Methode von PRAETORIUS und POULSEN (42) in der Modifikation nach ZÖLLNER (23) angewandt.

P r i n z i p: Harnsäure weist im Strahlengang des Spektralphotometers bei 293 nm eine typische Absorption auf. Die Extinktion der Lösung ist dabei proportional der Konzentration, das Maximum ist pH-abhängig. Das Enzym Uricase bewirkt eine Umwandlung von Harnsäure in Allantoin, die Absorption bei 293 nm verschwindet. Der Extinktionsabfall bei pH = 9, 3 beträgt für eine Harnsäurekonzentration von 1 µg/ml und einer Schichtdicke der Küvette von 1 cm 0,0745.

1. Reagentien

a. Glycin-Stammpufferlösung 0,66 m, pH = 9,3

25 g kristallines Glycin in
200 ml aqua dest.
110 ml n NaOH
ad 500 ml aqua dest.

(pH-Kontrolle; gekühlt über Chloroform aufbewahren)

b. Glycin-Gebrauchspufferlösung 0,06 m, pH = 9,3

Der Stammpuffer wird mit bidestilliertem Wasser 1:10 verdünnt.

c. Enzympräparat Uricase Löwens (Løvens Kemiske Fabrik - Kopenhagen)

Stammlösung: 1 Ampulle wird in 0,25 ml Gebrauchspuffer gelöst. Die Stammlösung muß 15 min stehen, ehe daraus die Uricasegebrauchslösung hergestellt wird.

Gebrauchslösung: Man stellt sie durch Verdünnung der Stammlösung 1:100 mit Gebrauchspuffer her.
Ihre Eigenextinktion soll zwischen 0,010 und 0,015 liegen, um bei den Standardbedingungen des Extinktionskoeffizienten zu bleiben.

2. Durchführung

Es wird hier die Bestimmung der Harnsäure im Serum beschrieben. Abweichungen, die für die Bestimmung im Harn gelten, stehen gesondert am Schluß.

a. Serumverdünnung:

Das Serum wird im Meßkölbchen mit Gebrauchspufferlösung 1:25 verdünnt (1 ml auf 25 ml oder 0,4 ml auf 10 ml).
Es muß nun zügig weitergearbeitet werden, da Harnsäure in alkalischem Milieu schnell oxydiert.

b. Ansätze für die Photometrie:

Die Untersuchung muß als Doppelbestimmung durchgeführt werden, alle Ansätze sind also zweimal zu pipettieren.

Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Enzyms (E_F):

1. 2 ml Puffergebrauchslösung + 1 ml Uricasegebrauchslösung
2. 3 ml Puffergebrauchslösung

Zur Bestimmung der Extinktion des Serums (E_{HS}):

3. 2 ml Serumverdünnung + 1 ml Puffergebrauchslösung
4. 2 ml Serumverdünnung + 1 ml Uricasegebrauchslösung

Zuerst gibt man den Puffer, dann das Enzym zu, um Verunreinigungen durch Fermentspuren zu vermeiden. Die Ansätze werden durch Schütteln gemischt und bei Zimmertemperatur 20 min stehengelassen. Vor dem Photometrieren noch einmal aufschütteln.

c. Photometrieren:

Photometriert wird am Spektralphotometer bei Wellenlänge 293 nm mit Quarzküvetten der Schichtdicke 1 cm.

Vor der eigentlichen Messung sind die Küvetten im Strahlengang gegeneinander abzugleichen und Unterschiede bei der Berechnung zu berücksichtigen.

Gemessen werden:

E_F : Ansatz 2 als Nullwert gegen Ansatz 1

E_{HS} : Ansatz 4 als Nullwert gegen Ansatz 3

Für Ansätze, die Uricase enthalten, ist immer die gleiche Küvette zu benützen (1 und 4), da sonst enzymfreie Ansätze verunreinigt werden.

In Stichproben werden Serumansätze nach 5 min noch einmal abgelesen, die Extinktion darf sich nicht geändert haben. Dies dient zur Kontrolle der Beendigung der enzymatischen Reaktion. Doppelbestimmungen dürfen nicht über 3 - 4% differieren, andernfalls müssen sie neu angesetzt werden.

d. Berechnung:

Ansatz 4 enthält als Reaktionsprodukt Allantoin, quantitativ aus Harnsäure entstanden, Ansatz 3 nach wie vor die gleiche Menge an Harnsäure. Die Harnsäurekonzentration wird durch die Extinktionsdifferenz der beiden Ansätze erfaßt. Zu berücksichtigen ist noch, daß in Ansatz 4 die Uricaseeigenextinktion mit eingeht und dieser Fehler rechnerisch eliminiert werden muß, indem man E_F zur Extinktionsdifferenz E_{HS} addiert ($E_{HS} + E_F$).

Mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten für eine Lösung von 1 µg/ml und einer Schichtdicke von 1 cm $\varepsilon = 0,0745$ errechnet sich die Harnsäurekonzentration des Versuchsansatzes zu

$$\frac{(E_{HS} + E_F)}{0,0745} \text{ µg/ml}$$

Durch Einsetzen der Verdünnungsfaktoren und Abrunden des Koeffizienten erhält man die Serumharnsäurekonzentration zu:

$$\frac{(E_{HS} + E_F) \cdot 3 \cdot 25 \cdot 100}{0,075 \cdot 2 \cdot 1000} \text{ mg\%} = \frac{(E_{HS} + E_F)}{2} \cdot 100 \text{ mg\%}$$

Rechenbeispiel:

Bei einer Bestimmung nach dieser Methode erhält man die Extinktionsdifferenz der Serumansätze $E_{HS} = 0,091$ und die Uricaseeigenextinktion $E_F = 0,011$. Daraus errechnet sich eine Harnsäurekonzentration von

$$\frac{(0,091 + 0,011)}{2} \cdot 100 = 5,10 \text{ mg\%}$$

3. Anmerkungen

a. Unterschiede in der Eiweißkonzentration der Harnsäurelösungen haben keinen Einfluß auf die Ergebnisse der Bestimmung. Es ist daher zulässig, den Extinktionskoeffizienten auch bei der Berechnung von Serumkonzentrationen zu verwenden (23).

b. Die photometrischen Messungen wurden an einem Zeiss Spektralphotometer Typ PMQ II - M4Q III bei Raumtemperatur durchgeführt.

c. Bestimmung der Harnsäure im Harn:
Sie verläuft analog der Harnsäurebestimmung im Serum. Die Ausgangsverdünnung richtet sich nach der zu erwartenden Konzentration an Harnsäure; sie muß in der Berechnung berücksichtigt werden. Bei dieser Berechnung werden immer die Harnsäuremengen im 24-Stunden-Urin in mg angegeben. Dazu ist die Menge in 1 ml mit dem Volumen V der Tagesurinausscheidung zu multiplizieren:

$$\frac{(E_{HS} + E_F) \cdot 3 \cdot n \cdot V}{0,075 \cdot 2 \cdot 1000} \text{ mg/die}$$

n = eingesetzte Verdünnung der Urinprobe.

Rechenbeispiel:
Bei einer Bestimmung ergibt sich der Extinktionsabfall im Harnansatz E_{HS} zu 0,26, die Eigenextinktion des Enzyms E_F zu 0,010. Die Anfangsverdünnung betrug 1:50, das Sammelvolumen 1500 ml. Man erhält so:

$$\frac{(0,26 + 0,01) \cdot 3 \cdot 50 \cdot 1500}{0,075 \cdot 2 \cdot 1000} = 405,0 \text{ mg/die}$$

d. Da in den verschiedenen Untersuchungsabschnitten des Gesamtversuchs unterschiedliche Mengen von Harnsäure im Sammelurin anfielen, verwendeten wir auch verschiedene Verdünnungen mit Glycingebrauchspuffer. Ein weiterer Grund, vor allem für die hohen Verdünnungen, war die Vermeidung von Fehlern bei der Ablesung am Photometer bei hohen Extinktionswerten der Urinansätze. Die zur Bestimmung verwendeten Urinproben der ersten drei Versuchsperioden, sowie aus Abschnitt V der Versuchsperson H.M. wurden 1:50, die Urine der IV. Periode 1:125 verdünnt.

II. Quantitative Bestimmung von Hypoxanthin und Xanthin im Urin

Prinzip: Nach Abtrennung der Harnsäure von den Oxypurinen mittels Kationenaustauscher werden Hypoxanthin und Xanthin durch die Einwirkung von Xanthinoxydase quantitativ zu Harnsäure oxydiert. Diese bestimmt man dann nach der eben genannten Methode mit Uricase. Das Maß für die Menge Hypoxanthin und Xanthin zusammen sind somit Harnsäureäquivalente (43).

A. Abtrennung der Harnsäure von den Oxypurinen des Harns

1. Reagentien:

a. Kationenaustauscher Dowex 50 WX 8,
50 - 100 mesh, p.A. (Serva Heidelberg)
Seine Kapazität von 4,9 mäq (Kationen)/g (Trockengewicht) sinkt unterhalb eines pH von 1,5 langsam ab.

b. 2n NaOH

c. 5n HCl

d. 25%ige Ammoniaklösung

2. Durchführung:

a. Vorbereiten des Kationenaustauschers:
Dowex 50 H^+ - Kationenaustauscher wurde nach üblicher Waschanleitung mit 2n NaOH und 5n HCl gewaschen und in H^+-Form in Wasser für höchstens vier Wochen aufbewahrt.

b. Herrichten der Austauschsäulen:
Glassäulen mit 0,8 cm Innendurchmesser, ca 20 cm lang, werden am Auslauf mit einem Glasnagel und mit Glaswolle abgedichtet und dann 10 cm ($\pm$ 0,5 cm) hoch mit dem gewaschenen Dowex 5o H^+ gefüllt, wobei in der Dowexsäule keine Luftblasen enthalten sein dürfen.

c. Auftragen der Urinprobe:

Die vom zu bestimmenden Urin entnommene adäquate Probe wird vor der Bestimmung noch einmal gut gemischt. Dann pipettiert man 5 ml auf die Säule und verbindet das obere Ende der so beschickten Säule über ein Gummistück luftdicht mit einem 100 ml-Schütteltrichter.

d. Eluation:

Nun läßt man 70 ml 0,01 n HCl durch den Schütteltrichter über die Säule laufen. Dazu pumpt man durch Zusammendrücken der Schlauchverbindung ca 2 cm hoch Eluationsmittel über die Austauschersäule; es läuft dann kontinuierlich weiter.

Bei saurem pH liegen die $-SO_3H^+$-Gruppen des Dowex 50 H^+-polystyrolharzes dissoziiert vor. Xanthin (pK_{Base} 0,8) und Hypoxanthin (pK_{Base} 1,98) werden gegen die Protonen ausgetauscht und in der Nähe der $-SO_3$-Gruppen festgehalten.

$$-SO_3^-H^+ + X^+ \text{ (oder } HY^+) \rightleftharpoons -SO_3^-X^+ \text{ (oder } -SO_3^- HY^+) + H^+$$

X = Xanthin

HY = Hypoxanthin

Harnsäure zeigt keine Affinität zum Austauscher, sie wird eluiert. Das Eluat mit Harnsäure wird verworfen.

Obige Austauschreaktion unterliegt dem Massenwirkungsgesetz. Erhöht man die H^+-bzw. NH_4^+-Konzentration oder Durchflußmenge, so wird die Passage von Hypoxanthin und Xanthin durch die Dowex-Säule beschleunigt.

Daher werden Hypoxanthin und Xanthin mit 80 ml 2%iger NH_3-Lösung eluiert. Dieses Eluat fängt man in Gefäßen (Weithalskolben) auf, die man vorher mit einer Markierung bei 30 ml Inhalt versehen hat.

e. Einengen des NH_3-Eluats:

Das Eluat wird nun mit Siedesteinchen 30 - 40 min gekocht und dabei von 80 ml auf 30 ml eingeengt.

B. Enzymatische Bestimmung von Hypoxanthin und Xanthin als Harnsäureäquivalente

1. Reagentien:

a. Glykokoll-Puffer pH = 9,3 aus:

I. 85 ml 0,1 n Glykokoll-Lösung

Glykokoll	7,507 g
NaCl	5,850 g
aqua dest.	auf 1000 ml

II. 15 ml 0,1 n NaOH

b. Glycinpuffer 0,6 m, pH = 9,3

c. Enzympräparat Xanthinoxydase, 20 mg (2 ml), p.A. (15347 EXAA, C.F. Boehringer u. Söhne, Mannheim) 0,5 ml der Xanthinoxydaselösung werden 1 : 20 mit Glykokoll-Puffer verdünnt.

d. Enzympräparat Uricase:

1 Ampulle Uricase Löwens wird in 0,25 ml Glycingebrauchspuffer (0,06 m) gelöst. Wieder soll im Reaktionsansatz die Eigenextinktion des Enzyms zwischen 0,010 und 0,015 liegen.

Beide Enzyme wirken bei pH = 9,3; Uricase optimal, Xanthinoxydase mit 75% ihrer optimalen Aktivität (Optimum bei pH = 8,2) (44).

2. Durchführung:

a. Puffern des Eluats:

Man überträgt nun das eingeengte Eluat, das nur die Oxypurine enthält, in einen 50 ml-Meßkolben mit Schliff, puffert mit 5 ml 0,6 m Glycinstammpuffer (pH = 9,3) und füllt mit aqua dest. auf 48,5 ml auf. Der Rest auf 50 ml wird später prozentual als Enzymzusatz dem Ansatz zugegeben.

b. Ansätze für die Photometrie:

Von dem gepufferten und aufgefüllten Eluat werden nach sorgfältigem Mischen die Ansätze A, B und C je zweimal zur Doppelbestimmung in Reagensgläser pipettiert.

Ansatz A: 3 ml Eluat
90 µl aqua dest.

Ansatz B: 3 ml Eluat
70 µl Xanthinoxydaselösung
20 µl aqua dest.

Ansatz C: 3 ml Eluat
70 µl Xanthinoxydaselösung
20 µl Uricaselösung

Für die Eigenextinktion der Uricase gibt man zu 5 ml Glycinpuffer (0,6 m) in einem Meßzylinder aqua dest. bis zur 48,5 ml-Marke. Angesetzt werden dann:

Ansatz B_F: 3 ml Pufferverdünnung
70 µl Xanthinoxydaselösung
20 µl aqua dest.

Ansatz C_F: 3 ml Pufferverdünnung
70 µl Xanthinoxydaselösung
20 µl Uricaselösung

Da in beiden Reaktionsansätzen (B und C) gleiche Mengen Xanthinoxydaselösung enthalten ist, muß deren Eigenextinktion nicht bestimmt werden.

Alle Ansätze sind im gleichen Arbeitsgang auszuführen. Zuerst gibt man das destillierte Wasser, dann die Xanthinoxydaselösung und zuletzt die Uricaselösung zu. Die Ansätze werden durch Schütteln gut gemischt und bleiben dann bei Zimmertemperatur 2 Stunden stehen.

c. Photometrieren:

Es sind die gleichen Grundsätze zu befolgen, wie sie bei der Methode für die Harnsäurebestimmung angegeben wurden. Besonders ist darauf zu achten, daß die Ansätze A, B und C jeweils in die gleiche Küvette gefüllt werden. Nach Überprüfung der Wellenlänge des Photometerlichts (293 nm) gleicht man die Quarzküvetten gegeneinander ab und schüttelt die Ansätze noch einmal auf.

Beim Photometrieren setzt man Ansatz A = 0,000, um Fehler durch andere Substanzen des Urins zu umgehen und mißt die Extinktionen der Ansätze B und C.

Für die Messung der Uricaseeigenextinktion wird C_F gegen B_F(= 0,000) gestellt.

Negative Werte von C können auftreten. Man bestimmt sie, indem man Ansatz C = 0,000 setzt und die Extinktion des entsprechenden Ansatzes A mißt. Es gilt dann: $E_A = -E_C$.

d. Berechnung:

Im Ansatz B entsteht aus Hypoxanthin und Xanthin durch die Wirkung der Xanthinoxydase Harnsäure. In Ansatz C geht die Oxydation in Gegenwart von Uricase bis zum Allantoin weiter. Aus der Extinktionsdifferenz dieser beiden Ansätze ($E_B - E_C$) läßt sich die Harnsäurekonzentration berechnen.

Die Extinktionsdifferenz von Ansatz A und Ansatz C weist noch auf andere Substanzen im Harn außer Hypoxanthin und Xanthin hin.

Aus Gründen, die schon bei der Harnsäurebestimmung besprochen wurden, muß auch hier die Uricaseeigenextinktion der Extinktionsdifferenz ($E_B - E_C$) zugezählt werden. Bei Messung gegen Ansatz B_F entspricht die Extinktion von Ansatz C_F dieser Enzymeigenextinktion (E_F).

Es gilt also:

$(E_B - E_C) + (E_F) = E_{HS'}$

wenn E_{HS} die Extinktion der aus Hypoxanthin und Xanthin entstandenen Harnsäure ist.

In Analogie zur Berechnung bei der Harnsäurebestimmung ergibt sich dann:

$$\frac{E_{HS} \cdot n}{0,075} \ \mu g/ml$$

n = Urinverdünnung, bei uns stets von 5 auf 50 ml, also 1 : 10.

Die Tagesausscheidung an Oxypurinen berechnet sich dann, in Harnsäureäquivalenten, zu:

$$\frac{E_{HS} \cdot 10 \cdot V}{0,075 \cdot 1000} \ mg/die$$

bei einem Tagesharnvolumen V in ml.

Rechenbeispiel:

Bei einer Bestimmung nach der beschriebenen Art erhält man folgende Werte:

$(E_B - E_C) = 0,0875$

$E_F = 0,011$

Volumen V = 1250 ml

Damit errechnen sich:

$$\frac{0,0985 \cdot 10 \cdot 1250}{0,075 \cdot 1000} = 16,4 \text{ mg/die .}$$

3. Anmerkungen:

a. Prüfungen der Bestimmungsmethode brachten Ergebnisse, nach denen unter den angegebenen Versuchsbedingungen Allopurinol weder durch das Enzym Xanthinoxydase noch durch Uricase Einfluß auf die photometrische Bestimmung bei einer Wellenlänge von 293 nm ausübt. Allopurinol und sein Abbauprodukt Oxypurinol hemmen demnach die quantitative Bestimmung von Oxypurinen im Harn nach der beschriebenen Methode nicht (45).

b. Um Fehlerquellen bezüglich der Säulenkapazität, des Eluationsvorgangs und der Ablesegenauigkeit am Spektralphotometer bei hohen Extinktionen zu meiden, wurden die Urine, bei denen wir hohe Hypoxanthin-Xanthin-Konzentrationen erwarten durften, folgendermaßen verdünnt:

Urine der ersten Periode bleiben unverdünnt.
Urine der zweiten Periode 1 : 2,
Urine der dritten Periode 1 : 4 und 1 : 5, sowie die
Urine der vierten Periode 1 : 4 und 1 : 2
gemäß dem Ansteigen und Abfallen der Konzentrationen.
Je 5 ml dieser Verdünnung wurden dann zur Eluation auf die Austauschersäule aufgetragen.

III. Versuchsbeschreibung

1. Versuchspersonen

Drei männliche, gesunde Versuchspersonen im Alter von 24 bzw. 25 Jahren konnten für die Untersuchungen gewonnen werden. Weder in den Eigen-, noch in den Familienanamnesen fanden sich Hinweise auf Gicht. Die Versuchspersonen wurden nicht hospitalisiert, sie gingen ihren normalen Beschäftigungen nach.

2. Diät

Während des gesamten Versuchs wurde eine isocalorische, streng purinarme Diät als Basiskost verabreicht. Ihr Purin-N-Gehalt betrug weniger als 10 mg/1000 Cal, das sind weniger als 24 mg Harnsäure/ 1000 Cal. Die Eiweißzufuhr war bei Verwendung von purinfreiem Protein mit 10 Cal-% konstant.

Den Berechnungen lag die Nahrungsmitteltabelle von SCHALL (46) zugrunde. Die Diät wurde von der Ernährungsberatungsstelle der Klinik in Form von sieben verschiedenen Tagesspeiseplänen erstellt. Dazu kam eine mündliche Unterweisung der Versuchspersonen durch die Diätassistentin. Die Tagespläne befinden sich im Anhang (Tab. 3 bis 9). Auch in der Wahl der Getränke wurde den Plänen entsprochen, auf Alkohol wurde ganz verzichtet.

Während des gesamten Versuches konnte unter der Basisdiät Gewichtskonstanz erreicht werden (tägliche Gewichtskontrolle). Auf eine völlig purinfreie Kost wurde verzichtet, da sie die Schwierigkeiten in der Führung der Versuchspersonen und, bei der langen Dauer des Versuchs, das Risiko eines vorzeitigen Abbrechens wesentlich erhöht hätte.

Der geringe Puringehalt der Versuchsdiät führt nur zu einer unwesentlichen Steigerung der Harnsäureausscheidung gegenüber einer rein purinfreien Diät und kann deshalb vernachlässigt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wird der Ausdruck "endogene Uratquote" für die Harnsäureausscheidung unter Basisdiät verwendet.

3. Meßgrößen

Gemessen wurden täglich die Serumharnsäure im Nüchternblut und die Harnsäure- und Oxypurinausscheidung im 24-Std.-Urin. Nüchterngewicht und Diätplan wurden außerdem täglich registriert.

Der Urin wurde über Chloroform gesammelt und leicht angesäuert, um eine Oxydation der Harnsäure zu verhindern. Die Tagesmenge wurde gemessen, gut gemischt und neutralisiert, um ausgefallene Harnsäurekristalle zu lösen. Hierauf wurden ca 50 ml entnommen und bei -18 Grad Celsius bis zur Bestimmung gelagert.

Bei geringer Urinausscheidung ist die Gesamtausscheidung an Harnsäure abhängig vom Urinvolumen. Konstant wird die Harnsäureclearance erst ab einer Harnausscheidung von 1 ml/min. Um hier Fehler weitgehend auszuschalten, wurde versucht, ein annähernd gleichbleibendes Tagessammelvolumen zu erzielen. Dies gelang am besten mittels geregelter Flüssigkeitszufuhr über den ganzen Tag sowie durch Einschränkung des Salzverbrauchs. Bei den Versuchspersonen lagen die Ausscheidungsvolumina dann zwischen 1200 und 1400 ml pro Tag.

4. Versuchsablauf und -dauer

Der Versuchsablauf ist in Abb. 5 dargestellt. Über die gesamte Dauer erhielten die Versuchspersonen die purinarme Basisdiäat. Nach einer Beobachtungsperiode unter dieser Kost wurden 400 mg Allopurinol*), auf vier Gaben über den Tag verteilt, zugelegt.

---

*) Zyloric^{R} (Allopurinol), Burroughs Wellcome & Co., London

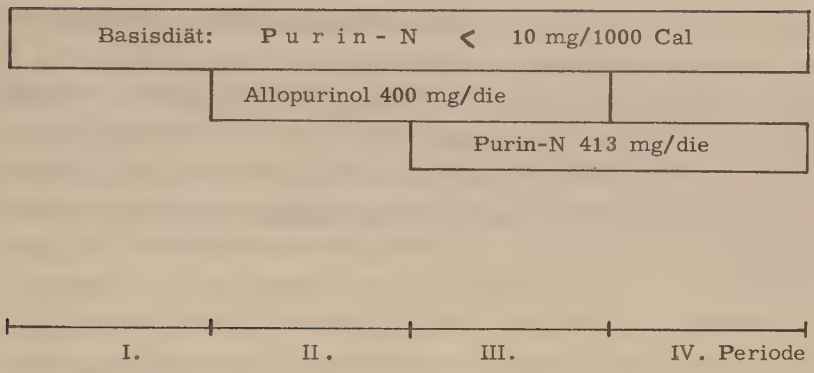


Abb. 5: Versuchsablauf (schematisch)

Im nächsten Abschnitt (Periode III) erfolgte die Zulage von 4 g Ribonukleinsäure*) —— das sind 413 mg Purin-N —— ebenfalls in vier Gaben.
Nach Ablauf dieser Periode wurde im IV. Versuchsabschnitt Allopurinol abgesetzt und unter Beibehaltung der Basisdiät nur noch RNS gegeben.

In einem Vorversuch mit der Versuchsperson H.M. wurden die einzelnen Versuchsabschnitte mit je 6 vollständigen Meßtagen konstant gehalten. An den vierten Abschnitt (Basisdiät + 4 g RNS) schloß sich noch die Kontrollperiode V unter reiner Basisdiät an (entspricht Abschnitt I). Die Gesamtdauer der fünf Abschnitte betrug insgesamt 31 Tage. Während des IV. Versuchsabschnitts (am 22. Meßtag) erkrankte H.M. an einem Virusinfekt. Zwar wurde der Versuch weiter durchgeführt, doch führten hochfebrile Temperaturen, Inappetenz sowie ein geringes Ausscheidungsvolumen zu irregulären Versuchsbedingungen. Ab dem 28. Meßtag jedoch kann H.M. wieder als "Normalperson" angesehen werden.
Der Vorversuch brachte zahlreiche technisch-organisatorische Erfahrungen, die im Folgenden ebenso ihren Niederschlag fanden wie die Folgerungen aus den erzielten Ergebnissen. So wurde mit den beiden anderen Versuchs-

*) Ribonukleinsäure: RNS (Hefe) 15332 RRAA,
C.F. Boehringer u. Söhne, Mannheim

personen (K.W. und S.K.) zwar dem Schema entsprechend verfahren, die Dauer der Beobachtungsabschnitte jedoch war hier unterschiedlich lang. Sie richtete sich nach dem Zeitpunkt der Konstanz von Serumharnsäurespiegel, Harnsäure- und Oxypurinausscheidung im 24-Std.-Urin. So entstanden Abschnitte von 11 (I.), 9 (II.), 9 (III.) sowie 7 bzw. 8 (IV.) aufeinanderfolgenden Tage. Dies ergibt eine Gesamtversuchsdauer von 37 (bei K.W. von 36) Tagen.

E. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

Plateaus in den graphischen Darstellungen der einzelnen Versuchsparameter (Abb. 6-9) zeigen das Erreichen konstanter Verhältnisse am Ende der einzelnen Versuchsperioden an; die täglichen Meßwerte schwanken dort nur um einen geringen Mittelwert. Um aber bei der Berechnung der einzelnen Abschnittsergebnisse von solchen Tagesschwankungen unabhängig zu sein, wurden hierfür die Mittelwerte aus den Bestimmungen der letzten 2-3 Versuchstage eines jeden Versuchsabschnitts als Bezugsgrößen gewählt. Diese Mittelwertsbildung erfolgte für die ersten beiden Versuchsabschnitte aus den drei letzten, für die Abschnitte III und IV aus den zwei letzten Meßwerten (Tab. 10, 11, 13). Für den Vorversuch (Versuchsperson H.M.) wurden jeweils die Endwerte aus Tabelle 12 verwendet.

Abb. 6 zeigt einen typischen Versuchsablauf. Von einem Ausgangswert von 5,05 mg% sinkt der Harnsäurespiegel im Serum dieser Versuchsperson unter purin- und eiweißarmer Basisdiät nach 8 Tagen auf einen Mittelwert von 3,49 mg% ab. Dies entspricht einer Senkung um nahezu 31%. Die renale Tagesausscheidung von 400 mg Harnsäure entspricht definitionsgemäß der endogenen Uratquote (1). Dies sind 97% der Gesamtpurinausscheidung (= Summe der Ausscheidungsmengen von Harnsäure und Oxypurinen) am Ende der ersten Versuchsperiode; die Oxypurinkonzentration im Urin beträgt 13,7 mg/die .

Die zusätzliche Einnahme von 400 mg Allopurinol führt zu einem weiteren raschen Abfall der Harnsäurekonzentration im Serum um 41,5% von 3,49 mg% auf einen konstanten Spiegel von 2,04 mg%; dieser Wert wird bereits am dritten Tag nach Einnahmebeginn erreicht. Die Harnsäureausscheidung stellt sich nach sieben Tagen auf eine mittlere Tagesmenge von 173,89 mg ein, während die renale Oxypurinelimination um das 6,2-fache von 13,76 auf 99,19 mg/die ansteigt. Diese erhöhte Ausscheidung der Harnsäurevorläufer ersetzt jedoch nicht die Verminde-

rung der renalen Ausscheidung von Harnsäure; es kommt zu einer Reduktion der Gesamtpurinausscheidung um 33,9% auf 273,09 mg/Tag.

Verabreicht man in Versuchsabschnitt III zu Basisdiät und Allopurinolmedikation noch zusätzlich 4 g RNS täglich (dies entspricht 413 mg Purin-N), so kommt es zu einem steilen Anstieg der Oxypurinelimination, während die Harnsäureausscheidung nur wenig zunimmt. Der Serumharnsäurespiegel erhöht sich um rund 1 mg%. - Setzt man dann Allopurinol ab (Periode IV: Basisdiät + 4g/die RNS), so steigen Serumkonzentration und Ausscheidung der Harnsäure steil an, der Anteil der Oxypurine an der Gesamtpurinmenge wird sehr klein.

Um alle diese Veränderungen richtig bewerten zu können, muß man sich erst mit den Ergebnissen des letzten Versuchsabschnittes befassen. Die Anordnung der Versuchsperioden wurde so gewählt, um die Anpassungsphasen an die Bedingungen eines neuen Versuchsabschnitts so kurz wie möglich zu halten.

Die IV. Versuchsperiode mit einer täglichen oralen Gabe von 413 mg Purin-N in Form von Ribonukleinsäure zur Diät dient zur Ermittlung der exogenen Uratquote. Es ergibt sich eine Erhöhung des Harnsäurespiegels im Serum auf 7,025 mg%; ab dem 6. Tag ist die Versuchsperson hyperurikämisch. Die renale Harnsäureausscheidung steigt, auf Kontrollperiode I bezogen, von 400 auf 752 mg/die (um 88%). Die Harnsäuremehrausscheidung pro Tag von im Mittel 352,27 mg unter oraler Purinbelastung entspricht 146,8 mg Purin-N. Dies bedeutet, daß 35,5% der oral zugeführten Purin-N-Menge von dieser Versuchsperson als Harnsäure im Urin wieder ausgeschieden werden.

Erhält die Versuchsperson zur Basisdiät und RNS-Belastung gleichzeitig noch 400 mg/die Allopurinol (Periode III), so fallen Serumharnsäure und renale Harnsäureausscheidung unter die Werte der Kontrollperiode (I) ab. Die auf das 18,7-fache angestiegene Eliminationsrate für Hypoxanthin und Xanthin kann aber, wie auch in Abschnitt II zu beobachten war, die Verringerung der renalen Harnsäureausscheidung nicht ersetzen; die Gesamt-

purinausscheidung geht von 771,91 auf 626,31 mg/die (um 18,85%) zurück.

Alle Versuchspersonen zeigen grundsätzlich das gleiche Verhalten (Tab. 13). Da bei der Versuchsperson H.M. in den letzten Versuchsabschnitten aufgrund einer zu kurzer Beobachtungsperioden keine Konstanz der Werte erzielt wurde, lassen sich lediglich die Mittelwerte der Versuchspersonen S. K. und K.W. miteinander vergleichen.
Nach täglicher Einnahme von 400 mg Allopurinol kommt es nach einer Woche zu einem Abfall des mittleren Serumharnsäurespiegels von 3,97 mg% auf 2,52 mg% und zu einer (um 216,26 mg verringerten) Harnsäureausscheidung im Urin von 235,80 mg pro Tag (Tab. 14). Die gesteigerte Hypoxanthin- und Xanthinausscheidung ersetzt jedoch diese Verminderung der renalen Harnsäureausscheidung nicht; bei beiden Versuchspersonen geht die Gesamtpurinausscheidung deutlich zurück (Tab. 13, Abb. 6, 7).
Die Zulage von 413 mg Purin-N in Form von Ribonukleinsäure bei Personen unter Basisdiät (Periode IV) führt gegenüber der Kontrollperiode zu hohen Werten für die Harnsäureparameter, die Gesamtpurinausscheidung beträgt im Mittel 858,04 mg/die (Tab. 14).
Die zusätzliche Allopurinolgabe (in Periode III) senkt die Harnsäure in Serum und 24-Std.-Urin unter die Werte der Kontrollperiode (I). Trotz hoher Oxypurinausscheidung (Beispiel Abb. 8) kommt es bei beiden Versuchspersonen zu einem deutlichen Gesamtpurindefizit.

Da sich bei den Versuchspersonen S.K. und K.W. ab dem 5. - 6. Tag jeder Versuchsperiode die Konstanz der Meßwerte abzuzeichnen beginnt (Tab. 10 und 11), erscheint es berechtigt, die Ergebnisse des Vorversuchs, soweit sie unter den Grundbedingungen der Untersuchung gewonnen wurden, mitzuwerten (Tab. 13).

Anhand der Abb. 9 läßt sich zeigen, daß das Verhalten von Versuchsperson H.M. mit dem der beiden anderen Versuchspersonen übereinstimmt. In Periode III liegt auch hier die renale Harnsäureausscheidung unter dem Wert der Kontrollperiode. Für eine genaue quantitative Auswertung jedoch

fehlen die Bezugswerte der Periode IV. In den ersten vier bestimmten Meßdaten dieses Abschnitts aber zeigen sich bereits der steile Anstieg der Harnsäureausscheidung sowie der rasche Abfall der Oxypurinelimination.
Periode V des Vorversuchs zeigt nach Einstellung der RNS-Zufuhr die Rückkehr zur Ausgangssituation in Serum und Urin für alle Meßgrößen schon innerhalb von vier Tagen (Abb. 9, Tab. 12).

Die Ergebnisse machen deutlich, daß Allopurinol in Bezug auf die exogene und die endogene Uratquote unterschiedliche Wirkung zeigt. Dabei wird letztere vergleichsweise gering vermindert, oral zugeführte Purine aber quantitativ eliminiert.
Ein Gesamtpurindefizit in der renalen Ausscheidung ist in beiden Fällen von Allopurinolgabe zu beobachten; es ist aber deutlich größer, wenn Allopurinol bei purinarmer Kost gegeben wird.

F. DISKUSSION

Endogene Uratquote

Sie ist definiert als die Harnsäureausscheidung bei purinfreier und proteinarmer Nahrung (1). Der Purinanteil der hier verwendeten Basiskost war mit weniger als 10 mg/1000 Cal Purin-N sehr gering. Nimmt man eine Resorptionsquote von ca 2/3 aus dem Gastrointestinaltrakt an, so ist die durch diese Basisdiät verursachte Harnsäuremehrausscheidung gegenüber der rein endogenen Uratquote zu vernachlässigen.

Die endogene Uratquote zeigt auch eine Abhängigkeit vom Proteingehalt der Nahrung; bei Verwendung von purinfreiem Eiweiß aber ist diese verhältnismäßig gering (49). Neue Untersuchungen an Gesunden mit Zulagen von Ei-Albumin zu einer purinfreien Formeldiät ergaben, daß die Harnsäureausscheidung im Urin bei gleichzeitiger Senkung des Serumharnsäurespiegels zwar ansteigt, eine Signifikanz gegenüber einer Protein-Null-Diät sich jedoch erst bei Zulagen zeigt, die über dem Eiweißminimum liegen (50).

Tab. 15: Harnsäure in Serum und Urin bei definierter Zulage von Ei-Albumin (zu purinfreier Formeldiät) bei Gesunden (nach WASLIEN und Mitarbeiter; 50)

g Eiweiß pro Tag	Harnsäure im Urin Anzahl d. Personen	mg/Tag	Serumharnsäure Anzahl d. Personen	mg%
0	14	354 ± 67	8	$6,0 \pm 0,7$
22	6	337 ± 48	10	$5,2 \pm 0,7$
28	6	352 ± 72	6	$5,6 \pm 0,7$
37	5	331 ± 28	5	$5,8 \pm 0,5$
75	20	392 ± 66	13	$4,7 \pm 0,6$

Der Proteingehalt unserer Versuchsdiät von 10 Cal-%, durchwegs purinfreies

Eiweiß, liegt im Bereich des Eiweißminimums und übt so praktisch keinen wesentlichen Einfluß auf die Harnsäureausscheidung aus.
Unter Berücksichtigung dieser Faktoren ist die unter der verwendeten Basiskost erzielte Ausscheidung von Harnsäure als endogene Uratquote anzusprechen. Sie betrug durchschnittlich rd. 388 mg/die bei einer Serumharnsäurekonzentration von 3,81 mg%. Ähnliche Ergebnisse erzielten BOWERING und Mitarbeiter (51) bei gesunden Versuchspersonen mittels einer purinfreien Formeldiät. Die Eiweißzulage betrug konstant 50 g/Tag Kasein. Es wurden eine tägliche Harnsäureausscheidung von 400 mg und ein Plasmagehalt an Harnsäure von 4 - 6 mg% gemessen.

Exogene Uratquote

Werden wie in Abschnitt IV des Versuchs der Basiskost Purine zugelegt, so kommt es zu einem prompten Anstieg der Serumharnsäurekonzentration sowie zu einer renalen Harnsäuremehrausscheidung, der exogenen Uratquote (1). Vor allem die Plasmaharnsäure zeigt bei den Versuchspersonen die größten individuellen Unterschiede. Während bei Versuchsperson S.K. unter RNS-Zulage ein Anstieg von 101% zu beobachten ist, beträgt dieser bei K.W. 57,4% und entspricht damit den Ergebnissen von WASLIEN und Mitarbeitern (50). Diese fanden bei fünf Gesunden unter purinfreier, eiweißarmer Kost (75 g/die Protein) nach Gabe von täglich 4 g RNS-Hefe einen mittleren Anstieg des Serumharnsäurespiegels von 4,9 mg% auf 7,7 mg% (um 52% des Ausgangswertes). Zwischen RNS-Dosis und Harnsäureausscheidung im Urin ermittelten sie eine lineare Beziehung. NUGENT und TYLOR (29), die unter Normalkost orale Purinbelastungsversuche mit der gleichen RNS-Menge bei gesunden Personen durchführten, verzeichneten einen Anstieg der Harnsäurekonzentration im Plasma von 5,6 auf 7,9 mg% (um 41%). Die Harnsäureausscheidung unter Purinbelastung liegt mit 926 mg/die im Vergleich zu ihrem Kontrollversuch ohne Purinzulage um 75% höher.
S.K. und K.W. wiesen bei guter Übereinstimmung der Werte eine durchschnittliche Zunahme der renalen Harnsäureausscheidung von 87% auf.

Allopurinolwirkungen

a) Einfluß auf die Uratquoten und die Oxypurine

Schon wenige Tage nach der Verabreichung von 400 mg/die Allopurinol bei gleichzeitiger Belastung mit 4 g/die RNS zeigte sich die vollständige Elimination der exogenen Uratquote. Die Werte für die Serumkonzentration und die Ausscheidung von Harnsäure sanken unter die der Kontrollperiode ab. Die Wirkung auf die endogene Uratquote allein wurde in Abschnitt II des Versuchs bestimmt; im Durchschnitt betrug sie 41,5%.

Das rasche Einsetzen der Wirkung und die hohe Wirksamkeit von Allopurinol auf die exogene Uratquote unterstreichen Versuchsergebnisse, nach denen eine tägliche Dosis von nur 100 mg Allopurinol innerhalb von drei Tagen Harnsäureanstiege im Plasma um durchschnittlich 7,35 mg% (nach Belastung mit 8 g/die RNS-Hefe) wieder nahezu normalisiert; die renale Harnsäureausscheidung wurde dabei von 1700 mg/Tag auf Werte zwischen 800 und 900 mg/Tag gesenkt (51).
Über den Einfluß von Allopurinol auf die verschiedenen Uratquoten bei Patienten mit primärer Gicht berichten FRANK und KLEMMAYER (52). Die Bestimmungswerte für Harnsäure in ihrem Drei-Phasen-Versuch (purinarm; purinarm + Allopurinol; purinreich + Allopurinol) liegen, absolut betrachtet, wesentlich höher als unsere Untersuchungsergebnisse bei Gesunden, doch stimmen sie in ihrer relativen Beziehung zueinander mit den vorliegenden überein. So finden auch diese Untersucher bei Purinbelastung (purinreich = 170 mg Purin-N + 13 g Protein-N täglich) und gleichzeitiger Allopurinoltherapie Werte für Serumharnsäurespiegel und Harnsäureausscheidung, die zwischen denen liegen, die sie bei purinarmer Kost allein (40 mg Purin-N + 9 g Protein-N täglich) einerseits und Allopurinolmedikation bei purinarmer Kost andererseits fanden.

Zusammen zeigen diese Ergebnisse, daß bei einer Gichttherapie, die auf Allopurinol basiert, eine Verordnung von purinarmer Diät nicht notwendig ist. Bei richtiger Dosierung beseitigt dieses Medikament den

exogenen Anteil an der Harnsäuresynthese und senkt darüber hinaus die endogene Rate. Umgekehrt erhöht eine purinarme Kost bei Allopurinoltherapie den Effekt des Medikaments nur wenig, da die Wirkung von Allopurinol auf die endogene Uratquote vergleichsweise gering ist.

In zunehmendem Maße werden zur Deckung des allgemeinen Proteinbedarfs der Bevölkerung Algen, bestimmte Bakterien, Hefen und andere Mikroorganismen herangezogen. Einer weiten Nutzung dieser Quellen aber könnte der hohe Gehalt an Nukleinsäuren (ca 1 g auf 10 g Protein) entgegenstehen. Da die Verwendung exogen zugeführter Purine für die körpereigene Nukleotidsynthese im Vergleich zur de-novo-Purinsynthese eine geringere Rolle spielt (53), werden diese exogen zugeführten Verbindungen direkt zu Harnsäure abgebaut. Deren Vermehrung in den Körperflüssigkeiten aber stellt wegen ihrer geringen Löslichkeit und relativ niederen Ausscheidungsquote für viele eine ständige Gefährdung der Gelenke und Ausscheidungsorgane dar. Der Einfluß von Allopurinol gerade auf die exogene Uratquote könnte hier vielleicht von Interesse werden.

Allopurinol wird nach oraler Einnahme im Gastrointestinaltrakt schnell und bis zu einem Ausmaß von 80% resorbiert (54).
SIMMONDS (55) fand im Sammelharn bei guter Nierenfunktion 76% der gegebenen Dosis Allopurinol, teils unverändert, teils als Abbauprodukte wieder. Allopurinol ist nicht nur Hemmstoff für das Enzym Xanthinoxydase, sondern auch Substrat; es wird in vivo rasch oxydiert. Das Produkt Oxypurinol (4, 6-Dihydroxypyrazolo-(3, 4-d)pyrimidin) hemmt das Enzym ebenfalls (56). Diese zu Xanthin strukturisomere Verbindung ist das Hauptabbauprodukt von Allopurinol (Abb. 11). In kleinen Mengen finden sich aber auch unverändertes Allopurinol, Allopurinol- und Oxypurinolribosid im Urin (56).

Allopurinol verhindert die Oxydation von Hypoxanthin und Xanthin zu Harnsäure durch die Blockierung des verantwortlichen Enzyms Xanthinoxydase. Xanthinoxydase ist ein Flavoprotein mit einem Molekulargewicht von rund 300 000 und enthält pro Molekül Enzym 8 Eisen- und 2 Molybdänatome,

deren Oxydations- bzw. Reduktionszustand für das Ausmaß an Aktivität mitverantwortlich ist. Die Wirkung von Allopurinol und von ähnlichen Verbindungen als Enzymhemmstoffe ist einer Reaktion zuzuschreiben, in welcher das Reaktionsprodukt aus der enzymatischen Hydroxylation in Position 6 einen Komplex mit der teilweise reduzierten Enzymform bildet. Diese Komplexbildung verhindert eine weitere Elektronenaufnahme und damit die katalytische Wirkung des Enzyms (57).
Die Hemmreaktion von Xanthinoxydase aus Leber oder Milch ist abhängig von der Relation der Inhibitor- und Substratkonzentrationen. Bei niederen Konzentrationen von Allopurinol gegenüber der Substratkonzentration ist die kompetitive Hemmung vorrangig; bei vergleichsweise hohen Allopurinolkonzentrationen ist dies nicht der Fall (56).

Obwohl Xanthinoxydase eine mannigfaltige Substratspezifität hat, ändern sich unter Allopurinol nur die Ausscheidungsmengen von Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure im Urin signifikant (39, 55). Die Harnsäureausscheidung wird geringer, die der Oxypurine nimmt stark zu. Die Größe der einzelnen Anteile an der Gesamtpurinausscheidung wird dabei im wesentlichen durch die Dosierung des Medikaments geregelt. Bei der vorliegenden Untersuchung stieg die Oxypurinausscheidung unter purinarmer Kost + Allopurinol (Versuchsabschnitt II) im Mittel auf das 7,1-fache von 13,56 auf 96,26 mg/die an; bei gleichzeitiger Purinbelastung (Abschnitt III) wurde ein Durchschnittswert ermittelt, der das 16-fache des Kontrollwertes überschreitet (Anstieg von 23,43 auf 383,44 mg/die).

Es ändert sich aber nicht nur das Verhältnis Harnsäure/Oxypurine, sondern auch das der Oxypurine untereinander. Der Urin des Gesunden enthält mehr Xanthin als Hypoxanthin; dieses Verhältnis ist wahrscheinlich typisch für alle Körperflüssigkeiten. Allopurinol erzeugt Bedingungen, die denen einer Xanthinurie ähneln. Die Zunahme der renalen Ausscheidung beträgt für Xanthin ein Vielfaches von der, welche für Hypoxanthin gemessen werden konnte (54, 55).
Anders verhalten sich die Oxypurine unter Allopurinol im Blut. Hier findet

man nur einen ganz geringen Anstieg (39, 54). Dieser Effekt ist auf die Clearance der Oxypurine in der Niere zurückzuführen. Sie ist weit größer als die für Harnsäure und ein steigender Oxypurinspiegel erhöht auch deren Clearance; möglicherweise spielt ein tubulärer Sekretionsprozeß eine Rolle (58). Unter Allopurinol erreichen die Harnsäurevorläufer im Blut ihren Sättigungswert nicht, und damit ist auch die Gefahr der Überschreitung der Löslichkeitsprodukte für Hypoxanthin und Xanthin im Gewebe sehr gering (59); sie wurde bis jetzt auch nicht als echte Komplikation einer Allopurinoltherapie beschrieben.

b) Einfluß auf die Gesamtpurine

In den Versuchsabschnitten II und III, in denen Allopurinol verabreicht wurde, findet man eine Abnahme der Gesamtpurinausscheidung im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollperioden ohne Allopurinoleinfluß (Abschnitte I und IV).

Über ein derartiges Defizit sowohl bei Gesunden als auch bei Gichtkranken berichten mehrere Untersucher, die bei der Testung von Allopurinol außer Harnsäure auch die Oxypurine im Harn bestimmten (39, 54, 55, 60). Bei manchen Versuchspersonen jedoch entspricht die vermehrte Hypoxanthin/Xanthin-Ausscheidung der Abnahme der Harnsäureausscheidung und balanciert so die Menge der Gesamtpurine im Urin aus (41, 61). Aber auch dort, wo ein Defizit gefunden wurde, zeigen sich Unterschiede in seinem Ausmaß. Personen mit einer hohen Harnsäureausscheidung waren mehr und stärker betroffen; man fand auch eine direkte Abhängigkeit des Gesamtpurindefizits von der Dosis des Medikaments (40, 62). Die Ergebnisse dieses Versuchs mit einem durchschnittlichen Gesamtpurindefizit von 15% unter Allopurinol und gleichzeitiger oraler Purinbelastung und mit 27% unter Allopurinol und Basisdiät allein liegen im unteren bis mittleren Bereich, doch sind auch schon wesentlich höhere Verminderungen beschrieben worden (63). HITCHINGS gibt an, daß das Defizit in der Gesamtpurinausscheidung bei einer Allopurinoldosis von 50 mg/kg Körpergewicht im Tierversuch nahe an 50% reicht (62). Um die Veränderung

der Gesamtpurinausscheidung unter Allopurinol zu erklären, diskutiert man eine Reihe von Theorien. Die Beobachtung, daß dieses Gesamtpurindefizit bei purinarmer Kost + Allopurinol größer ist als bei Purinbelastung + Allopurinol - wie die Ergebnisse dieses Versuchs ebenfalls zeigen - läßt vermuten, daß hier andere Wirkungsmechanismen von Allopurinol in Erscheinung treten. Hierbei sind sowohl weitere Primärwirkungen von Allopurinol, unabhängig von Xanthinoxydase, denkbar, als auch Wirkungen, die eine Folge der Enzymblockade darstellen.

Eine erste Theorie, von der Präsenz von Xanthinoxydase unabhängig, fordert die Blockierung des Enzyms PRPP-Amidotransferase durch Allopurinolribonukleotid (Mechanismus 1, Abb. 10).
Die Reutilisation von vermehrt anfallendem Hypoxanthin für den Nukleotidaufbau nach Xanthinoxydaseblockierung durch Allopurinol ist eine andere Erklärungsmöglichkeit für die verminderte Gesamtpurinausscheidung (Mechanismus 2, Abb. 10).
Ein drittes mögliches Wirkungsprinzip würde über eine Reduzierung des Substrates PRPP zur Verringerung der Biosyntheserate führen, wenn entweder Allopurinol oder die vermehrt anfallenden Oxypurine in Nukleotide umgewandelt werden (Mechanismus 3, Abb. 10).
Eine vierte Möglichkeit erklärt das Gesamtpurindefizit durch Variationen im Zusammenspiel von Resorption, biochemischen Prozessen und Transportvorgängen für Allopurinol und exogene Purine im Intestinaltrakt.

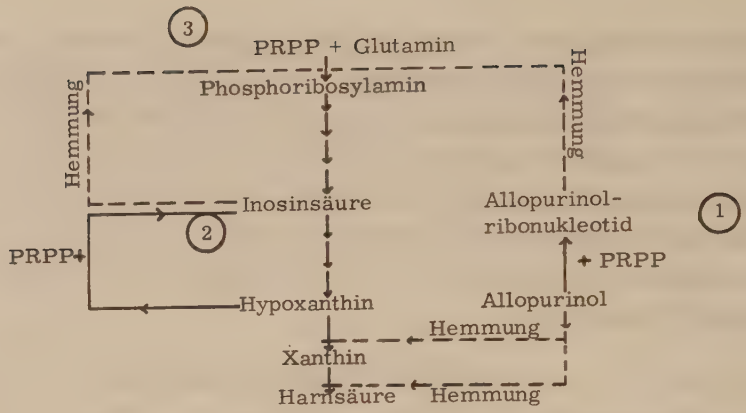


Abb. 10: Mögliche Mechanismen der Hemmung der de-novo-Purinsynthese durch Allopurinol (nach KELLEY, 65)

Mechanismus 1

Allopurinol wird durch das Enzym HG-PRTase in Gegenwart von PRPP in seine Ribonukleotidform übergeführt. In-vitro-Versuche zeigen, daß Allopurinolribonukleotid das Enzym PRPP-Amidotransferase und damit die de-novo-Synthese der Purine hemmen kann, die frei Base Allopurinol aber diese Wirkung nicht besitzt (64). In Kulturen mit normalen menschlichen Fibroblasten blockiert zugegebenes Allopurinol die ersten Reaktionen der Purinsynthese (65). Da hier das völlige Fehlen der Xanthinoxydase eine Wirkung im Sinne der Reutilisationstheorie (siehe Mechanismus 2) ausschließt, bietet sich die Erklärung des Befundes durch die Bildung von Allopurinolribonukleotid an. Übereinstimmend damit konnte bei gleicher Versuchsanordnung bei Zellen mit HG-PRTase-Mangel kein Einfluß von Allopurinol auf die Purinsynthese gefunden werden. Die Bemühungen aber, Allopurinolribonukleotid aus Zellen mit normaler HG-PRTase-Aktivität zu isolieren, hatten keinen Erfolg (65). Auch die Herkunft des Allopurinolnukleosids im Harn der meisten Patienten, die mit Allopurinol behandelt wurden, ist noch zu unklar, um diese Hypothese endgültig zu beweisen (66, 67).

Einen neuen Aspekt liefert die Tatsache, daß Allopurinol und auch Oxypuri-

nol in hohen Konzentrationen - wie sie auch in der Extrazellulärflüssigkeit von Patienten unter Allopurinoltherapie gemessen werden können - eine Hemmung der de-novo-Purinsynthese zeigen, die von der Präsenz des Enzyms HG-PRTase unabhängig ist. Der genaue Mechanismus dieser Hemmreaktion ist ebenfalls noch unbekannt und mit den derzeit diskutierten Theorien nicht zu erklären (65).

Mechanismus 2

Hypoxanthin, Xanthin und Guanin sind Substrate der HG-PRTase. Da Xanthin und Guanin nur in geringem Maße reutilisiert werden, scheint es die wichtigste Aufgabe des Enzyms zu sein, Hypoxanthin durch Umsetzung in Inosinsäure wieder dem Stoffwechsel der Purine zuzuführen (68). BALIS (69) schlägt für die Stoffwechselwege von Hypoxanthin einen Zyklus vor, der unabhängig von anderen Purinbasen ist. Er enthält eine Reaktionsfolge, die von AMP über Adenosin, Inosin zu Hypoxanthin, weiter mittels HG-PRTase zu Inosinsäure und zurück zu AMP führt (Abb. 12). Der Kreislauf ist abhängig von der Aktivität der Phosphoribosyltransferase.

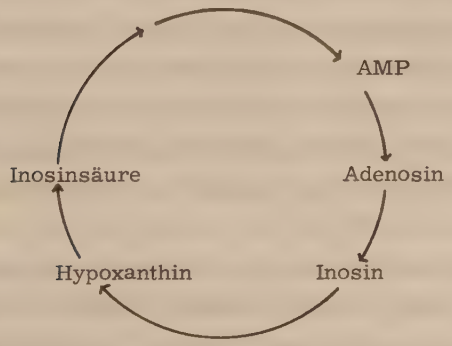


Abb. 12: Stoffwechselzyklus des Hypoxanthin (nach BALIS, 69)

Ein Ansteigen der Konzentration von Hypoxanthin in den Körperflüssigkeiten, wie es bei der Xanthinoxydasehemmung durch Allopurinol zu beobachten ist, kann bei normaler Aktivität der HG-PRTase zu einer vermehrten Bildung von IMP, Adenin- und Guaninnukleotiden führen, die wiederum über den Feedback-Mechanismus die PRPP-Amidotransferase hemmen (5). Sowohl für Hypoxanthin (70) als auch für Xanthin (71) gibt es Hinweise für eine erhöhte Reutilisation nach Allopurinolgabe im Tierversuch.
In-vitro-Versuche mit Fibroblastenkulturen (65) und Versuche in vivo (68) zeigen für den Menschen, daß während Allopurinoleinnahme Hypoxanthin als Folge seiner erhöhten Konzentration vermehrt in den Intermediärstoffwechsel der Purine einbezogen wird und gleichzeitig die Syntheserate der de-novo-Synthese sinkt.

Mechanismus 3

Sowohl für die Umsetzung von Allopurinol in sein entsprechendes Ribonukleotid als auch für die gesteigerte Reutilisation von Hypoxanthin und Guanin wird das Substrat PRPP benötigt. Bei einer gleichbleibenden Syntheserate für PRPP könnte der gesteigerte Verbrauch bei Allopurinolgabe zu einer Verringerung der Zellkonzentration an freiem PRPP führen. Die Folge davon ist, daß für die erste Reaktion der Purinbiosynthese zu wenig Substrat vorhanden ist und die Syntheserate abnimmt (17).
Für jeden dieser möglichen Mechanismen spielt die Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase eine wichtige Rolle. KELLEY und Mitarbeiter (72) fanden bei sieben von elf Personen mit hoher Harnsäuresynthese nach Allopurinoltherapie keine Verminderung der Gesamtpurinausscheidung im Harn; bei allen sieben Patienten war die Aktivität der HG-PRTase deutlich vermindert.
HG-PRTase-Mangel aber bedeutet, daß die Reutilisationsquote von Hypoxanthin erniedrigt ist. Eine der Folgen ist ein niedrigerer Verbrauch an PRPP; es wird für die Synthese der Purine vermehrt verfügbar, die Syntheserate steigt: Patienten mit HG-PRTase-Mangel weisen eine Überproduktion von Purinen auf (16). In Zellen mit Enzymmangel wurde auch eine Konzentrations-

erhöhung an freiem PRPP gefunden (73). Diese Befunde kann man, in Verbindung mit einer analogen Übertragung auf normale Zellen unter Allopurinoleinfluß, zur Unterstützung für die Wahrscheinlichkeit von Mechanismus 3 heranziehen: vermehrte Reutilisation von Hypoxanthin führte dann über einen PRPP-Mangel zu einer eingeschränkten Purinbiosyntheserate. Die Messung von freiem PRPP in Zellen, deren HG-PRTase-Aktivität der Norm entspricht und die der Einwirkung von Allopurinol ausgesetzt sind, könnte hier weitere Klärung bringen.

Mechanismus 4

Allopurinol hemmt die Xanthinoxydase. Außer in der Leber findet sich beim Menschen noch in der Mukosa des Dünndarms (Jejunum) ein relativ hoher Gehalt an diesem Ferment. Die aus der Darmschleimhaut isolierte Xanthinoxydase zeigt gleiche Eigenschaften und bei der Hemmung durch Allopurinol die gleiche Kinetik wie das Leberenzym (74).
Die Annahme, daß Allopurinol während seiner Resorption im Dünndarmepithel angereichert wird, bietet eine einfache Erklärung für die quantitative Elimination der exogenen Uratquote bei Zufuhr dieses Mittels. Durch die Hemmung der Xanthinoxydase werden die Oxypurine Hypoxanthin und Xanthin nicht mehr weiter abgebaut und häufen sich vor dem Block an. Ob die Verminderung der renalen Harnsäureausscheidung durch die Ausscheidung entsprechender Mengen von Oxypurin kompensiert wird oder ob ein Gesamtpurindefizit entsteht, dürfte dann davon abhängen, ob Hypoxanthin und Xanthin über das Interstitium ins Plasma transportiert und über die Niere wieder ausgeschieden werden oder aber zum Teil in das Darmlumen abdiffundieren, wo sie dem bakteriellen Abbau verfallen. Eine Klärung könnte der quantitative Nachweis von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin im Stuhl während vollständiger Bakteriostase des Darms bis in die oberen Abschnitte unter den Bedingungen der Basisdiät, Allopurinolmedikation und RNS-Belastung, dem beschriebenen Versuchsaufbau entsprechend, bringen.

G. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der unterschiedliche Einfluß von Allopurinol auf die endogene und exogene Uratquote geprüft.

Gesunde Versuchspersonen erhielten hierbei eine isocalorische Diät mit weniger als 10 mg Purin-N/1000 Cal und 10 Cal-% Milcheiweiß. Nach einer Kontrollperiode wurde Allopurinol, dann Allopurinol + RNS-Hefe und schließlich nur noch RNS zugelegt. Täglich wurden Serumharnsäure und die renale Ausscheidung von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen, daß Allopurinol in der verabreichten Weise die gesamte exogene Uratquote eliminiert, während der Einfluß auf die endogene Uratquote durchschnittlich nur 41,5% beträgt.

In allen Fällen fand sich unter Allopurinolmedikation eine Abnahme der Gesamtpurinausscheidung; der Anstieg der Oxypurinausscheidung ersetzt nicht die Verminderung der renalen Harnsäureausscheidung. Eine Erklärung hierfür bietet ein Einfluß von Allopurinol auf die de-novo-Purinsynthese.

Allopurinol hemmt die Xanthinoxydase, die sich reichlich in Leber und Dünndarmepithel findet. Die Annahme einer Anreicherung von Allopurinol im Dünndarmepithel während seiner Resorption könnte die quantitative Elimination der exogenen Uratquote bei Zufuhr dieses Arzneimittel erklären; die sich anhängenden Hydroxypurine Xanthin und Hypoxanthin, könnten dann in das Interstitium (mit folgender renaler Exkretion) und das Darmlumen (mit folgendem bakteriellen Abbau) abdiffundieren.

Tab. 3

Speisenplan I:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
	2 Teel. Kondensmilch 7,5% Fett.
	2 Scheiben Weißbrot (50g)
	2 Scheiben Pumpernickel
	3 Scheibletten Edamer Käse (oder anderer), 40% Fett
	20 g Butter/Margarine
	25 g = 1 Eßl. Marmelade
Mittagessen:	2 Brötchen
	3 Scheiben Pumpernickel
	20 g Butter/Margarine
	1 Gervais-Käse
	1/4 l Trinkmilch
Abendessen:	Nudelomelett von
	2 Eiern
	100 g Nudeln
	1/3 Tasse (50g) Milch
	1 Teel. Öl
	Kopfsalat (1 Tasse = 30g) angemacht mit 1 Teel. Öl,
	Zucker nach Belieben o d e r
	1 Apfel (ca 200g)
Getränke:	Apfelsaft
	Tee mit Zucker

Nudelomelett: Nudeln in Salzwasser weich kochen. Öl in der Pfanne erhitzen, Nudeln darin schwenken. Zwei Eier mit der Milch und Gewürzen wie Salz, Petersilie, Paprika verquirlen, über die Nudeln gießen und fest werden lassen.

Tab. 4

Speisenplan II:

Frühstück: Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
2 Teel. Kondensmilch, 7,5% Fett
1 Scheibe Pumpernickel
3 Scheiben Toastbrot (zu je 1/2 cm)
125 g Speisequark 20% Fett
2 Eßl. Pflaumenmus

Mittagessen: 4 Brötchen
20 g Butter/Margarine
4 Scheibletten Gouda (80g) 45% Fett
1/2 l Trinkmilch

Abendessen: Brühe (aus Maggi gekörnter Brühe) 1 Suppentasse mit
Tomatenwürfel von einer kleinen Tomate (kleiner als ein Ei) und
1 Eßl. (120g) gerieb. Parmesankäse

Grießbrei von
1/4 l Trinkmilch und
40 g Grieß mit Zucker und
1 Eßl. Butter/Margarine
1 Tasse Pflaumenkompott
1 Scheibe Pumpernickel

Getränke: Apfelsaft
Tee mit Zucker

Tab. 5

Speisenplan III:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
	2 Teel. Kondensmilch, 7,5% Fett
	30 g Cornflakes mit
	1 Tasse Trinkmilch (150g) und Zucker
	3 Scheiben Toast
	10 g Butter/Margarine
	50 g Camembert, 45% Fett
Mittagessen:	3 Brötchen
	30 g Butter/Margarine
	50 g Emmentaler Käse
	1 Becher Joghurt
	1/4 l Kakao
Abendessen:	2 Eier in Senfsoße
	3 Kartoffeln, je 60 g (eigroß)
	1 Schälchen Ananas-Kompott
Getränke:	Apfelsaft + Organgensaft
	Tee, Kaffee

Eier in Senfsoße: Eier hart kochen, kalt abschrecken, schälen.
Soße: 1 Eßl. Öl in einem Topf erhitzen, 2 gestrichene Teel. Mehl dazugeben und eine halbe geschnittene Zwiebel, kurz dünsten.
Soße mit Wasser ablöschen, gut durchkochen lassen. Mit Senf, Salz, einer Prise Zucker abschmecken.
Eier hineingeben und heiß werden lassen.

Tab. 6:

Speisenplan IV:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
	2 Teel. Kondensmilch, 7,5% Fett
	2 Scheiben Pumpernickel
	30 g Butter/Margarine
	1 Ei
	1 Eßl. Honig
Mitagessen:	1 Packung (250g) Quarkspeise mit Früchten
	2 Scheiben Pumpernickel
	20 g Butter/Margarine
	1/4 l Trinkmilch
Abendessen:	100 gedünsteter Reis mit
	Käsesoße (1 + 1/2 Ecken Schmelzkäse 45 % Fett)
	Mandarinenkompott
Getränke:	Apfelsaft + Orangensaft
	Tee, Kaffee

Käsesoße: 1 Eßl. Öl in einem Topf erhitzen, 1 Eßl. Mehl (wenig gehäuft) dazugeben, mit 1 Tasse (150g) Milch ablöschen, gut durchkochen lassen. 1 1/2 Ecken Schmelzkäse, 45% F., darin zergehen lassen, die Soße abschmecken mit etwas Paprika, ev. etwas Petersilie.

Tab. 7

Speisenplan V:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
	2 Teel. Kondensmilch, 7,5% Fett
	2 Scheiben Pumpernickel
	3 Scheiben Toast
	30g Butter/Margarine
	1 Eßl. Marmelade
	1 Becher Trinkmilch-Joghurt
Mittagessen:	3 Scheiben Toast
	2 Scheiben Pumpernickel
	2 Eßl. (wenig gehäuft) Mayonnaise
	2 hartgekochte Eier
	1 kleine Essiggurke
	1/4 l Trinkmilch
Abendessen:	Käse-Nudelsalat, s. Rezept
	1 Tasse Kompott
Getränke:	Apfelsaft + Organgensaft
	Tee, Kaffee,
	Limonaden

Käse-Nudel-Salat: 80g Nudeln (Hörnchen) in Salzwasser weichkochen

100g Edamer Käse, 40% Fett, in feine Streifen schneiden

1 kleiner Apfel, in Stifte schneiden

1/2 kleine Zwiebel, fein schneiden

Alle Zutaten miteinander vermischen und mit Gewürzen: Salz, Pfeffer, Paprika, Essig abschmecken.

Tab. 8

Speisenplan VI:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
	2 Teel. Kondensmilch, 7,5% Fett
	2 Scheiben Toast
	2 Scheiben Pumpernickel
	30g Butter/Margarine
	1 Ei
	1/2 Brie-Käse 50% Fett (50g)
	1 Eßl. Honig
Mittagessen:	Gedünstete Gurke, s. Rezept
	2 Scheiben Toast
	20g Butter/Margarine
	125g Speisequark 20% Fett mit
	Kompott
	1/4 l Trinkmilch
Abendessen:	4 Scheiben Toast
	20g Butter/Margarine
	3 Scheibletten Käse 45% Fett (zusammen 80g)
	mit Ananas belegen und im Backofen bei starker Hitze kurz überbacken
Getränke:	Apfelsaft + Organgensaft
	Limonaden
	Tee, Kaffee

Gedünstete Gurke: 150g grüne Gurke in Scheiben schneiden. 1 Eßl. Öl im Topf erhitzen, die Gurkenscheiben dazugeben und etwa 10 min mit Salz, Dill oder Petersilie dünsten. Danach etwa 1/2 Tasse Wasser dazugeben. Die Soße mit 1 gehäuften Teel. Mehl binden, abschmecken mit Salz und einer Prise Zucker.

Tab. 9

Speisenplan VII:

Frühstück:	Kaffee oder Tee mit Zucker nach Belieben und
	2 Teel. Kondensmilch, 7,5% Fett
	1 Scheibe Pumpernickel
	3 Scheiben Toast
	30g Butter/Margarine
	125g Speisequark 20% Fett
	1 Eßl. Marmelade
Mitagessen:	4 Brötchen
	20g Butter/Margarine
	75g Emmentaler Käse 45% Fett
	1/4 l Trinkmilch
Abendessen:	Kaiserschmarrn von 2 Eiern, s. Rezept
	Apfelmus
	1 Scheibe Pumpernickel mit 5g Butter/Margarine
Getränke:	Apfelsaft + Orangensaft
	Limonaden
	Tee, Kaffee

Kaiserschmarrn: 2 Eier mit
1 Tasse Milch und
2 gehäuften Eßl. Mehl verquirlen, 1 Prise Salz zugeben

1 1/2 Eßl. Öl in einer Pfanne erhitzen, den Teig hineingeben und goldgelb backen lassen;
dann grob zerteilen und durcheinandermischen,
rundherum goldgelb backen lassen.

Tab. 10: Serumharnsäurespiegel, renale Harnsäure-, Oxpurin- und Gesamtpurinausscheidung der Versuchsperson S.K.

Nr.	Serum-HS mg%	Urinausscheidung in 24 Std. mg HS	mg XA+HXA	mg Gesamtpurin
I. Basisdiät: Purin-N < 10 mg/1000 cal				
0	5,05			
1	4,10	460,75	18,50	479,25
2	4,00	407,00	17,20	424,20
3	4,05	396,52	18,60	415,12
4	4,05	378,94	14,60	393,54
5	4,25	432,95	14,10	447,05
6	3,82	400,00	17,60	417,60
7	4,20	405,70	17,80	423,15
8	4,20	369,60	15,20	384,80
9	3,55	373,65	14,80	388,45
10	3,42	420,25	15,10	435,35
11	3,50	405,40	11,40	416,80
II. Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die				
12	2,85	292,00	53,60	345,60
13	2,45	264,04	92,49	356,53
14	2,00	201,60	108,20	309,80
15	1,87	220,22	106,02	326,24
16	2,10	204,67	102,20	306,87
17	2,10	208,80	104,83	313,63
18	2,12	172,75	103,76	276,51
19	2,05	178,88	100,72	279,60
20	1,95	170,06	93,10	263,16
III. Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die + Purin-N 413 mg/die				
21	2,72	177,11	263,44	440,55
22	3,05	200,91	290,16	491,07
23	3,42	252,00	410,70	662,70
24	2,90	252,03	445,15	697,18
25	2,90	231,84	382,08	613,92
26	3,10	257,02	384,92	641,94
27	3,05	249,50	370,00	619,50
28	3,00	255,70	374,05	629,75
29	3,05	253,30	369,57	622,87

Fortsetzung Tab. 10

IV. Basisdiät + Purin-N 473 mg/die (= Harnsäure 991,2 mg/die)

30	4,45	274,65	209,93	484,59
31	5,70	425,17	156,81	518,98
32	6,00	639,76	77,75	717,51
33	6,47	651,13	14,52	665,65
34	6,45	664,08	15,06	679,14
35	7,00	735,83	15,23	751,06
36	7,05	754,89	18,25	773,14
37	7,00	749,17	21,51	770,68

Tab. 11: Serumharnsäurespiegel, renale Harnsäure-, Oxpurin- und Gesamtpurinausscheidung der Versuchsperson K.W.

I. Basisdiät: Purin-N < 10 mg/1000 cal

Nr.	Serum-HS mg%	Urinausscheidung in 24 Std. mg HS	mg XA+HXA	mg Gesamtpurin
0	5,1			
1	4,57	485,97	13,70	499,67
2	4,52	495,64	19,90	515,54
3	4,52	508,50	24,52	533,02
4	4,60	491,04	15,95	506,99
5	5,15	488,48	13,97	502,45
6	5,12	456,35	18,33	474,68
7	4,80	472,77	13,80	486,57
8	4,80	502,86	18,08	520,94
9	4,40	490,03	15,16	505,19
10	4,45	493,00	16,74	509,74
11	4,50	494,10	18,30	512,40
II. Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die				
12	3,95	497,90	39,84	537,74
13	3,40	500,55	123,82	624,37
14	3,02	371,46	111,88	483,34
15	2,87	397,93	107,70	505,63
16	2,95	291,27	104,62	395,89
17	3,05	284,70	129,07	413,77
18	3,02	280,00	123,67	403,67
19	2,95	292,05	124,23	416,18
20	3,02	267,12	127,68	394,80
III. Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die + Purin-N 413 mg/die				
21	3,05	282,80	267,30	650,10
22	3,65	363,91	343,25	707,16
23	4,05	372,17	339,00	711,17
24	3,60	427,40	341,75	769,15
25	3,45	416,72	345,40	762,12
26	3,60	419,23	479,85	899,08
27		429,70	375,55	805,25
28	3,55	434,90	423,75	858,65
29	3,55	417,58	366,40	783,98

Fortsetzung Tab. 11

IV. Basisdiät + Purin-N 413 mg/die (= Harnsäure 991,2 mg/die)				
30	5,00	607,30	140,10	747,40
31	6,30	707,37	133,60	840,97
32	7,40	876,35	38,12	914,47
33	6,52	917,75	25,44	943,19
34	6,97	858,56	22,00	880,56
35	7,00	910,23	25,76	935,99
36	7,00	924,16	28,20	952,36

Tab. 12: Serumharnsäurespiegel, renale Harnsäure-, Oxypurin- und Gesamtpurinausscheidung der Versuchsperson H.M.

I. Basisdiät: Purin-N < 10 mg/1000 cal

Nr.	Serum-HS mg%	Urinausscheidung in 24 Std.		
		mg HS	mg XA+HXA	mg Gesamtpurin
0	4,05			
1	4,40	351,60	15,20	366,80
2	4,00	360,80	16,67	377,47
3	3,55	360,79	12,52	373,31
4	3,65	336,72	10,81	347,53
5	3,97	349,05	16,90	365,95
6	3,50	371,80	10,20	382,00
II. Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die				
7	2,87	199,49	37,00	236,49
8	2,40	196,01	77,80	275,81
9	2,32	209,70	77,04	286,74
10	2,57	189,11		
11	2,30	193,32		
12	2,17	208,60	64,4	273,00
III. Basisdiät + Allopurinol 400 mg/die + Purin-N 413 mg/die				
13	3,17	209,04	242,30	451,34
14	3,32	265,20	316,00	581,20
15	3,65	244,53	261,35	505,88
16	3,90	309,28	267,45	576,73
17	3,35	459,01	245,10	704,11
18	4,45	321,88	247,65	569,53
IV. Basisdiät + Purin-N 413 mg/die (= Harnsäure 991,2 mg/die)				
19	4,00	559,31	139,00	698,31
20		601,90	29,70	621,67
21	4,22	609,08	16,22	625,20
22	5,05	615,00	12,66	627,66
23	6,50	200,20		
24	5,77	247,35		
25	6,05	918,56		

Fortsetzung Tab. 12

V. Basisdiät: Purin-N < 10 mg/1000 cal

26	5,10	418,91
27	4,55	380,10
28	4,35	415,42
29	3,82	397,12
30	3,87	397,71
31	4,05	391,37

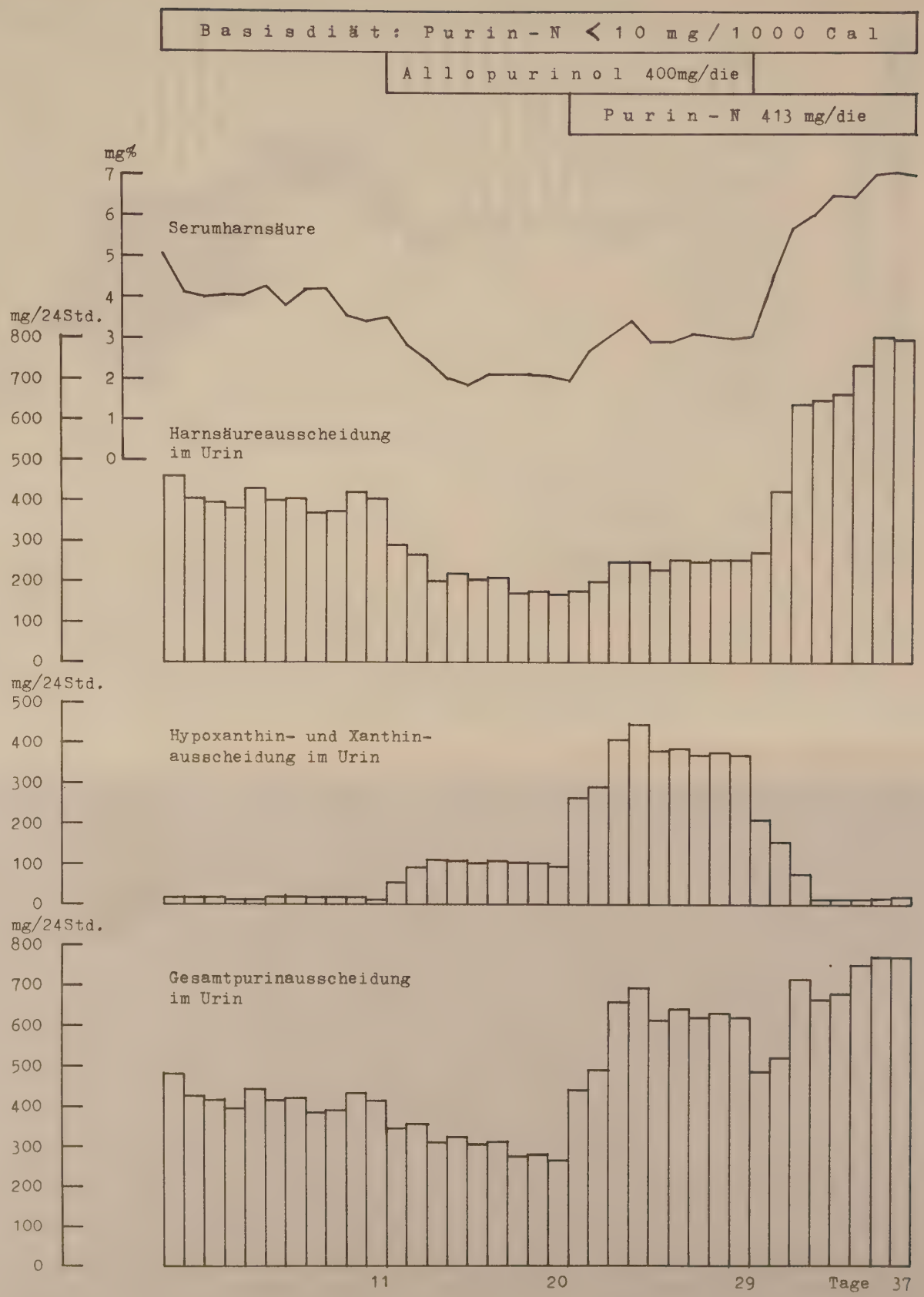


Abb. 6: Verhalten der Harnsäure in Serum und Urin, renale Oxypurin- und Gesamtpurinausscheidung bei der Versuchsperson S.K.

Abb. 7: Verhalten der Harnsäure in Serum und Urin und der Oxypurine im Urin bei der Versuchsperson K.W.

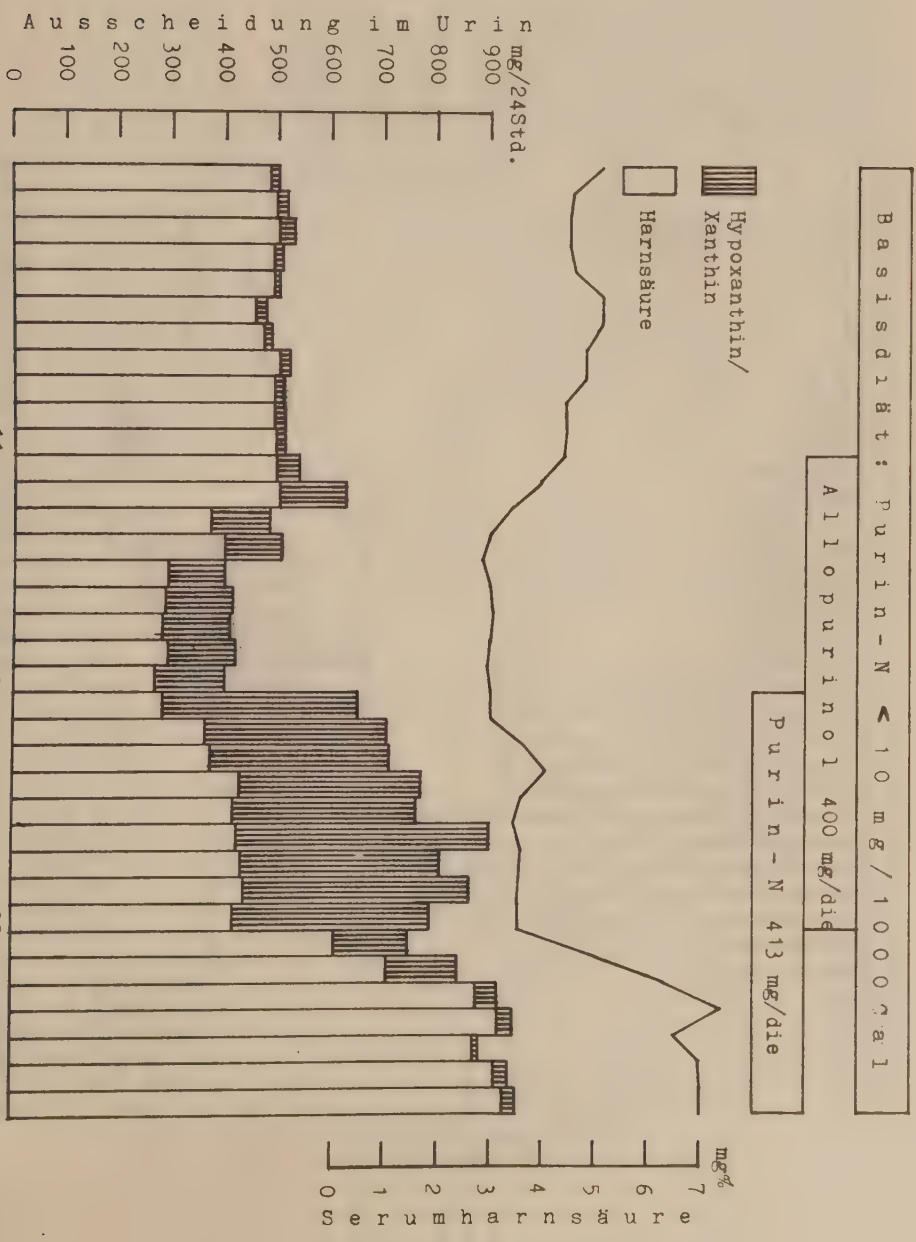


Abb. 8: Oxypurinausscheidung in Relation zum Serumharnsäurespiegel bei der Versuchsperson K.W.

Abb. 9: Verhalten der Harnsäure in Serum und Urin und der Oxypurine im Urin bei der Versuchsperson H.M.

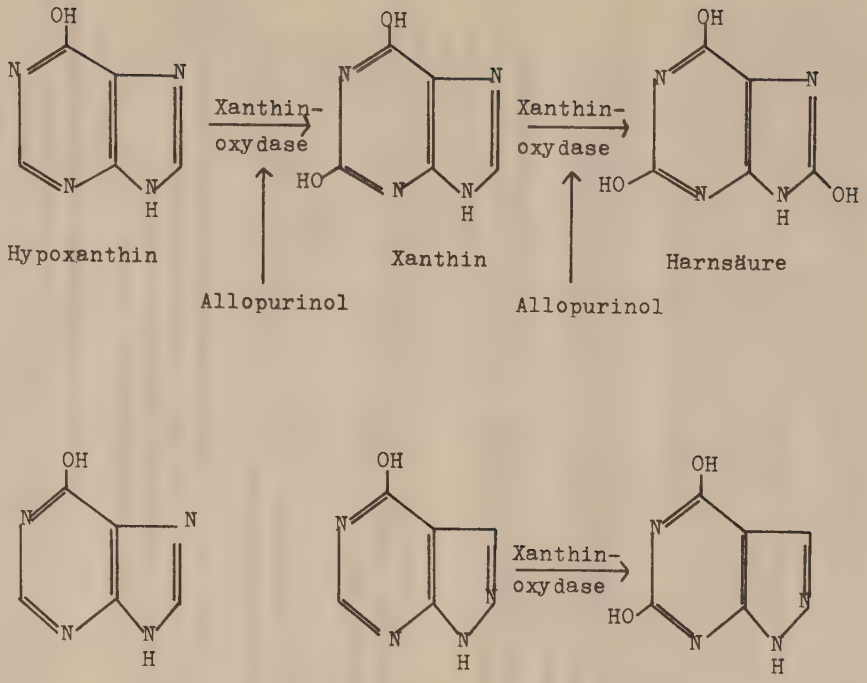


Abb. 11: Mechanismus der Reaktionen zwischen Xanthinoxidase und Allopurinol.

Allopurinol ist ein Isomer von Hypoxanthin. Im Wettbewerb um die Xanthinoxydase hemmt es die Produktion von Harnäsure aus Xanthin und Hypoxanthin.
Allopurinol wird mittels Xanthinoxydase zu Oxypurinol abgebaut. Dieses hemmt das Enzym ebenfalls.

LITERATUR

1) Zöllner, N.: Moderne Gichtprobleme. Ergeb. Inn. Med. und Kinderheilk. 14, 321 (1960)

2) Grundlegende Literatur über die Purinsynthese findet sich in:
a) Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie, 6. Aufl., Stuttgart 1967

b) Zöllner, N.: Nucleinstoffwechsel. In: Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten. 2. Aufl. Stuttgart 1957

c) Hartmann, S.C. and Buchanan, J.M.: The Biosynthesis of the Purines. Ergeb. Physiol. 50, 75 (1959)
und 1)

3) Mayer, J. and Magasanik, B.: Guanosine 5-Phosphate Reductase and its Role in the Interconversion of Purine Nucleotides. J. Biol. Chem. 235, 1474 (1960)

4) Wyngaarden, J.B. and Greenland, R.A.: The Inhibition of Succinoadenylate Kinosynthetase of Escherichia Coli by Adenosine and Guanosine 5-Monophosphates. J. Biol. Chem. 238, 1054 (1963)

5) ----, and Ashton, D.M.: The regulation of activity of phosphoribosylpyrophosphate-amidotransferase by purineribonucleotides. A potential feedback control of purine biosynthesis. J. Biol. Chem. 234, 1492 (1959)

6) Caskey, C.T., Ashton, D.M. and Wyngaarden, J.B.: The enzymology of feedbackinhibition of glutamin-phosphoribosylpyrophosphate-amidotransferase by purine ribonucleotides. J. Biol. Chem. 239, 2570 (1964)

7) Nierlich, D.P. and Magasanik, B.: Regulation of purine ribonucleotide synthesis by end product inhibition. J. Biol. Chem. 240, 358 (1965)

8) Jones, O.W., Ashton, D.M. and Wyngaarden, J.B.: Accelerated turnover of phosphoribosylpyrophosphate purine nucleotide precursor in certain gouty subjects. J. Clin. Invest. 41, 1805 (1962)

9) Gutman, A.B. and Yü, T.F.: Uric acid metabolism in normal man and in primary gout. New England J.Med. 273, 252+313 (1965)

10) Lesch, M. and Nyhan, W.L.: A familian disorder of uric acid metabolism and central nervous system function.
Am. J. Med. 36, 561 (1964)

11) Hoefnagel, D., Andrew, E.D., Mireault, N.G. and Berndt, W.O.: Hereditary Choreoathetosis, Self-Mutilation and Hyperuricemia in Young Males.
New Engl. J. Med. 273, 130 (1965)

12) Henderson, J.F., Kelley, W.N., Rosenbloom, F.M. and Seegmiller, J.E.: Inheritance of purine phosphoribosyltransferases in man.
Am. J. Human. Genet. 21, 61 (1969)

13) Seegmiller, J.E., Rosenbloom, F.M. and Kelley, W.N.: Enzyme defect associated with a sex-linked human neurological disorder and excessive purine synthesis.
Science 155, 1682 (1967)

14) Henderson, J.F., Brox, L.W., Kelley, W.N., Rosenbloom, F.M. and Seegmiller, J.E.: Kinetic studies of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase.
J. Biol. Chem. 243, 2514 (1968)

15) Blakley, R.L. and Vitals, E.: The control of nucleotide biosynthesis.
Ann. Rev. Biochem. 37, 201 (1968)

16) Kelley, W.N., Rosenbloom, F.M., Henderson, J.F. and Seegmiller, J.E.: A spezific enzyme defect in gout associated with over production of uric acid.
Proc. Nation. Acad. Sci. 57, 1735 (1967)

17) ---: Hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransferase deficiency in the Lesch-Nyhan syndrome and gout.
Fed.Proc. 27, 1047 (1968)

18) Henderson, J.F.: Inheritance of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase deficiency and detection of heterozygotes.
Fed. Proc. 27, 1085 (1968)

19) Engleman, K., Watts, R.W.E., Klinenberg, J.R., Sjoerdsma, A. and Seegmiller, J.E.: Clinical, physiological and biochemical studies of a patient with xanthinuria and pheochromocytoma.
Am. J. Med. 37, 839 (1964)

20) Seegmiller, J.E., Laster, L. and Howell, R.R.: Biochemistry of uric acid and its relation to gout.
New Engl. J. Med. 268, 712 (1963)

21) Hall, A.P., Barry, P.E., Dawber, T.R., McNamara, P.M.: Epidemiology of gout and hyperuricemia.
Am. J. Med. 42, 27 (1967)

22) Mikkelsen, W.M., Dodge, H.J. and Valkenburg, H.: The distribution of serum uric acid values in an population unselected as to gout or hyperuricemia.
Am. J. Med. 39, 242 (1965)

23) Zöllner, N.: Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung. Normalwerte in der deutschen Bevölkerung.
Z. klin. Chemie 1, 178 (1963)

24) Sorensen, L.B.: Degradation of uric acid in man.
Metabolism 8, 687 (1959)

25) Zöllner, N.: Die Gichtniere. In: Handbuch der Inneren Medizin Bd. 8 Teil III, S. 77. Berlin-Heidelberg-New York 1968

26) Howell, R.R. and Seegmiller, J.E.: Uricolysis by human leucozytes.
Nature (London) 196, 482 (1962)

27) Møller, J.V.: The excretion of urate at various plasma concentrations and during osmotic diuresis in the rabbit.
Acta physiol. scand. 66, 419 (1966)

28) Gutman, A.B., Yü, T.F. and Berger, L.: Tubular secretion of urate in man.
J. Clin. Invest. 38, 1778 (1959)

29) Nugent, C.A. and Tylor, F.H.: The renal excretion of uric acid in patients with gout and in nongouty subjects.
J. Clin. Invest. 38, 1890 (1959)

30) Seegmiller, J.E., Grayzel, A.I., Howell, R.R. and Plato, C.: The renal excretion of uric acid in gout.
J. Clin. Invest. 41, 1094 (1962)

31) Zöllner, N.: Der Purinstoffwechsel und seine Störungen.
Verh. dt. Ges. Urol., 20. Tagung Wien 1963, S. 15

32) Henderson, J.F.: Purine Metabolism and Human Disease.
Clin. Biochem. 2, 241 (1969)

33) Delbarre, F., Auscher, C. et Amor, B.: Action uricosurique et antigoutteuse de certains dérivés du benzofuranne.
Presse méd. 73, 2723 (1965)

34) Zöllner, N., Stern, G., Gröbner, W. und Dofel, W.: Über die Senkung des Harnsäurespiegel im Plasma durch Benzbromaronum. Klin. Wschr. 46, 1318 (1968)

35) Grayzel, A.I., Seegmiller, J.E. and Love, E.: Suppression of uric acid synthesis in the gouty human by the use of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine. J. Clin. Invest. 39, 447 (1960)

36) Delbarre, F. et Auscher, C.: Traitement de la goutte par l'acide uracile-6-carboxylique et ses derives. Presse méd. 71, 1765 (1963)

37) Kelley, W.N., Rosenbloom, F.M. and Seegmiller, J.E.: The effects of azathioprine (Imuran) on purine synthesis in clinical disorders of purine metabolism. J. Clin. Invest. 46, 1518 (1967)

38) Sorensen, L.B.: Suppression of the shunt pathway in primary gout by azathioprine. Proc. Nat. Acad. Sci. 55, 571 (1966)

39) Rundles, R.W., Wyngaarden, J.B., Hitchings, G.H., Elion, G.H. and Silberman, H.R.: Effects of a xanthine oxidase inhibitor on thiopurine metabolism, hyperuricemia and gout. Trans. Assoc. Am. Physicians 76, 126 (1963)

40) Yü, T.F. and Gutman, A.B.: Effect of allopurinol (4-hydroxypyrazolo-(3,4-d)pyrimidine) on serum and urinary uric acid in primary and secondary gout. Am. J. Med. 37, 885 (1964)

41) Zöllner, N. und Schattenkirchner, M.: Allopurinol in der Behandlung der Gicht und der Harnsäure-Nephrolithiasis. Dt. Med. Wschr. 92, 654 (1967)

42) Praetorius, E. and Poulsen, H.: Enzymatic determination of uric acid with detailed directions. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5, 273 (1953)

43) Zöllner, N. und Högg, U.: Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung von Xanthin und Hypoxanthin im Urin. 1966, unveröffentl.

44) Morell: Biol. J. 51, 657 (1952)

45) Kurz, G.: Über die Wirkung von Allopurinol auf den Purinstoffwechsel beim Menschen. Inaugural-Dissertation, München 1968

46) Schall, H.: Nahrungsmitteltabelle. 19. Aufl., Leipzig 1967

47) Brøchner-Mortensen, K.: Uric acid in blood and urine.
Acta med. scand. Suppl. 134 (1937)

48) Sala, G., Ballabio, C.B., Amira, A., Ratti, G. et Cirla, E.: Renal mechanisms for urat excretion in normal and gouty subjectes
Contemp. Rheum. 1956, S. 581

49) Bien, E.J., Yü, T.F., Benedict, J.D., Gutman, A.B. and Stetten jr., D.: The relation of dietary nitrogen consumption to the rate of uric acid synthesis in normal and gouty man
J. Clin. Invest. 32, 778 (1953)

50) Waslien, C.I., Calloway, D.H. and Margen, Sh.: Uric Acid Production of Men Fed Graded Amounts of Egg Protein and Yeast Nucleic Acid.
The Am. J. Clin. Nutr. 21, 892 (1968)

51) Bowering, J., Sheldon, M., Calloway, D.H. and Rhyne, A.: Suppression of Uric Acid Formation from Dietary Nucleic Acid with Allopurinol.
Am. J. Clin. Nutr. 22, 1426 (1969)

52) Frank, O. und Klemmayer, K.: Zur Bedeutung der Diät in der modernen Gichtbehandlung.
Therapie der Gegenwart 107, 1601 (1968)

53) Foung, A., Norman, A.W.: Biosynthesis of purine nucleotides in chick liver and intestine.
Biochim. Biophys. Acta 174, 405 (1969)

54) Rundles, R.W.: Metabolic effects of allopurinol and Allo-xanthine.
Ann. Rheum. Dis. 25, 615 (1966)

55) Simmonds, H.A.: Urinary axcretion of purines, pyrimidines and pyrazolopyrimidines in patients treated with allopurinol or oxipurinol.
Clin. Chim. Acta 23, 353 (1969)

56) Elion, G.B., Taylor, T.J. and Hitchings, G.H.: Binding of substrates to xanthineoxidase from different species.
VI. International Congress of Biochemistry, New York; Abstracts IV - 42, 305 (1964)

57) Massey, V., Komai, H., Palmer, G. and Elion, G.B.: On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo-(3,4-d)pyrimidines.
J. Biol. Chem. 245, 2837 (1970)

58) Goldfinger, S., Klinenberg, J.R. and Seegmiller, J.E.: The Renal Excretion of Oxypurines.
J. Clin. Invest. 44, 623 (1965)

59) Klinenberg, J.R., Goldfinger, S.E. and Seegmiller, J.E.: The effectiveness of xanthine oxydase inhibitor allopurinol in the treatment of gout.
Am. Intern. Med. 62, 639 (1965)

60) Chalmers, R.A., Krömer, H., Scott, J.T. and Watts, R.W.E.: A comparative study of the xanthine oxidase inhibitors allopurinol and oxipurinol in man.
Clin. Sci. 35, 353 (1968)

61) Vogler, W.R., Bain, J.A., Huguley, Ch. M., Palmer, H.G. and Lowrey, M.E.: Metabolic and therapeutic effects of allopurinol in patients with leukemia and gout.
Am. J. Med. 40, 548 (1966)

62) Hitchings, G.H.: Effects of allopurinol in relation to purine biosynthesis.
Ann. Rheum. Dis. 25, 601 (1966)

63) Wyngaarden, J.B., Rundles, R.W. and Metz, N.: Allopurinol in the Treatment of Gout.
Ann. Int. Med. 62, 842 (1965)

64) McCollister, R.J., Gilbert, W.R., Ashton, D.M. and Wyngaarden, J.B.: Pseudofeedback inhibition of purine synthesis by 6-mercaptopurine ribonucleotide and other purine analogues.
J. Biol. Chem. 239, 1560 (1964)

65) Kelley, W.N. and Wyngaarden, J.B.: Effects of allopurinol and oxipurinol on purine synthesis in cultured human cells.
J. Clin. Invest. 49, 602 (1970)

66) Elion, G.B., Kovensky, A., Hitchings, G.H., Metz, E. and Rundles, R.W.: Metabolic studies of allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase.
Biochem. Pharmacol. 15, 863 (1966)

67) Krenitzky, T.A., Elion, G.B., Strelitz, R.A. and Hitchings, G.H.: Ribonucleosides of allopurinol and oxo-allopurinol: isolation from human urine, enzymatic synthesis and characterization.
J. Biol. Chem. 242, 2675 (1967)

68) Sorensen, L.B.: Mechanism of Excessive Purine Biosynthesis in Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase Deficiency.
J. Clin. Invest. 49, 968 (1970)

69) Balis, M.: Aspects of purine metabolism.
Fed. Proc. 27, 1067 (1968)

70) Pomales, R., Bieber, S., Friedman, R. and Hitchings, G.H.: Augmentation of the incorporation of hypoxanthine into nucleic acids by the administration of an inhibitor of xanthine oxidase.
Biochim. Biophys. Acta 72, 119 (1963)

71) ---, Elion, G.B. and Hitchings, G.H.: Xanthine as a precursor of nucleic acid purines in mouse.
Biochim. Biophys. Acta 95, 505 (1965)

72) Kelley, W.N., Rosenbloom, F.M., Miller, J. and Seegmiller, J.E.: An Enzymatic Basis for Variation in Response to Allopurinol (H-G-PR-Transferase Deficiency)
New Engl. J. Med. 278, 287 (1968)

73) Rosenbloom, F.M., Henderson, J.F., Kelley, W.N. and Seegmiller, J.E.: Accelerated purine biosynthesis de novo in skin fibroblasts deficient in hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransferase.
Biochim. Biophys. Acta 166, 258 (1968)

74) Watts, R.W.E., Watts, J.E.M. and Seegmiller, J.E.: Xanthine oxidase activity in human tissues and its inhibition by allopurinol (4-hydroxypyrazolo(3, 4-d)pyrimidine).
J. Lab. Clin. Med. 66, 688 (1965)

Herrn Prof. Dr. med. Nepomuk Zöllner danke ich für das Thema dieser Arbeit und für die Anregungen, die er dazu gab.
Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. Wolfgang Gröbner, der mich stets bestens betreut und mir oft in Gespräch und durch praktische Ratschläge weitergeholfen hat.
Verpflichtet bleibe ich weiterhin den Versuchspersonen, Herrn Manfred Haider und Herrn Wolfgang Krawietz; durch ihren freundschaftlichen Einsatz und die konsequente Durchführung; auch im unbequemsten Detail ermöglichten sie mir den experimentellen Grundstock dieser Arbeit.
Nicht zuletzt danke ich den Damen des Labors 363 für die freundliche Aufnahme und die Zusammenarbeit.

LEBENSLAUF

Am 6.1.1946 wurde ich in Viechtach (Kreis Regen) als drittes Kind des Lehrerehepaars Karl und Irene Sauer, geb. Elter, geboren.
Nach vier Klassen Volksschule von 1952-56 in Gotteszell (Kreis Regen) und Landshut, besuchte ich von 1956 - 65 die Oberrealschule Landshut, die ich 1965 mit der Reifeprüfung abschloß.

Nach dem zwölfmonatigen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr begann ich im Wintersemester 1966/67 an der Universität München das Studium der Humanmedizin, wo ich am 19.7.1972 auch die ärztliche Prüfung ablegte.
Im Juli 1971 heiratete ich.
Seit dem 1.10.72 bin ich als Medizinalassistent am Städtischen Krankenhaus Landshut tätig.